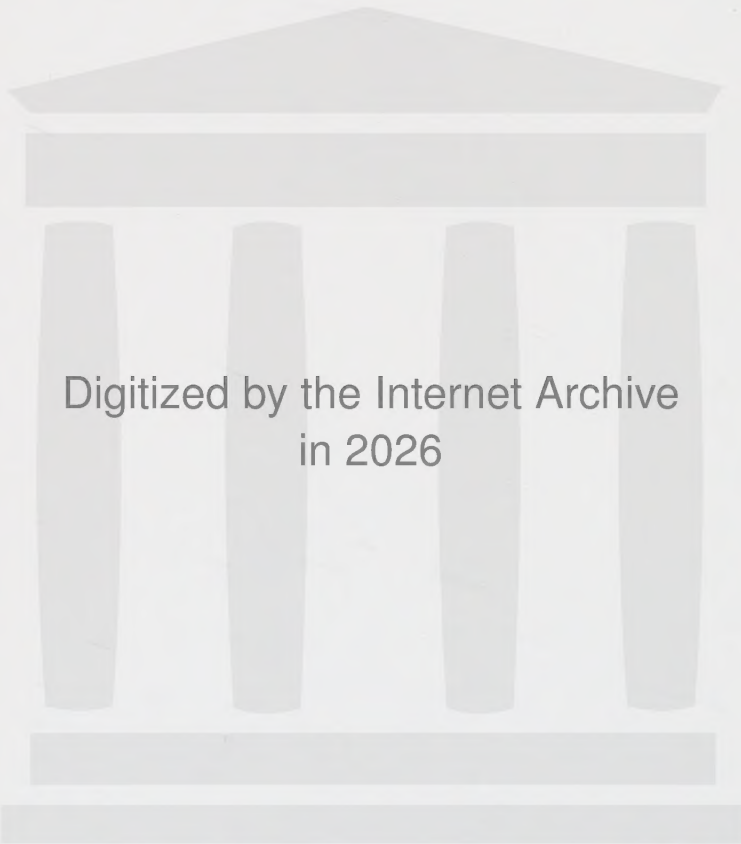


α -Aminoalkylierungsmittel

Eine neue Klasse
cytostatisch wirksamer Verbindungen

Adelheid Adam

1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555224_0019

α -AMINOALKYLIERUNGSMITTEL

eine neue Klasse cytostatisch wirksamer Verbindungen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

München

vorgelegt

von

Adelheid Adam
geb. Piringer

aus

München

1964



Berichterstatter: 1. Universitätsdozent Dr. H. SCHÖNENBERGER
2. Professor Dr. E. BAMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 27. 1. 1965

Meinen Eltern
in tiefer Dankbarkeit

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1960 bis Mai 1964 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München durchgeführt.

Die Anregung zu dieser Arbeit erhielt ich von Herrn Universitätsdozenten Dr. H. S c h ö n e n b e r g e r , dem ich für die wissenschaftliche Anleitung und unermüdliche Betreuung an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank aussprechen möchte.

Ergebenen Dank schulde ich auch Herrn Professor Dr. E. B a m a n n , Direktor des Institutes für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, für die großzügige Förderung meiner Arbeit und für das jederzeit bekundete Interesse und Wohlwollen.

In meinen Dank seien alle akademischen Lehrer eingeschlossen, deren Unterricht mir Förderung und Anregung war.

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einführung	1
B. Eigene Befunde	3
I. Die α -Aminoalkylierung biologischer Substrate	8
II. Einfluß der Kettenlänge auf die chemische Reaktivität und cyto- toxische Wirkung	11
III. Einfluß der Gruppe X auf die chemische Reaktivität und cyto- toxische Wirkung	11
IV. Anwendung des Prinzips "Transportform-Wirkform" bei α -Aminoalkylierungsmitteln	12
V. Zur Frage der Anreicherung α -aminoalkylierender Verbindun- gen im Tumor	14
VI. Diskussion	16
C. Herstellung der Aminoalkylantien	17
I. Herstellung von N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin	17
II. Herstellung von N, N, N', N', N'', N''-Hexa- methoxymethyl-melamin	17
III. Herstellung von Aminomethylsulfonaten	17
1. Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra- methylsulfonsaures Natrium	18
2. N, N'-Dimethyl-äthylendiamin-N, N'-di- methylsulfonsaures Natrium	18
3. Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonsaures Natrium	18
IV. Herstellung von Äthylthiomethylaminen	19
1. N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin	19
2. N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamin	19
3. N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin	20
4. N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin	21
V. Herstellung von Cyanomethylaminen	22
1. N, N, N', N'-Tetra-cyanomethyl-äthylendiamin	22
2. N, N'-Dimethyl-N, N'-di-cyanomethyl-äthylendiamin	23
3. 2-Chlor-4.6-di-cyanomethylamino-1.3.5-triazin	23
4. N, N'-Di-cyanomethyl-melamin	23
5. N, N', N''-Tri-cyanomethyl-melamin	24

	Seite
VI. Herstellung von 1.4.6.9-Tetraaza-tricyclo[4.4.1.1 ^{4,9}] dodecan .	24
VII. Herstellung von N, N-Dimethyl- dithiocarbamidsäure-dimethylaminomethylester	25
VIII. Herstellung der Schiffischen Basen	25
1. 4-Hydroxybenzylidenmethylamin	25
2. 4-Hydroxybenzyliden- β -Hydroxyäthylamin	26
3. 3.4-Dihydroxybenzylidenmethylamin	26
4. Benzylidenanthranilsäure	26
IX. Herstellung verschiedener monofunktioneller Verbindungen . . .	27
1. N, N, N', N'-Tetramethyl-diaminomethan	27
2. N, N-Dimethyl-pyrrolidiniumjodid	27
3. N-Äthoxymethyl-piperidin	27
4. α -Phenyl- α -(1-piperidino)-acetonitril	28
5. N, N-Diäthylaminomethyl-essigsäureester	28
D. Pharmakologische Prüfung	29
I. Versuchstechnik	29
1. Bestimmung der Toxizität	29
2. Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor	30
II. Auswertung der Ergebnisse	38
E. Zusammenfassung	89
F. Literaturverzeichnis	91

A. EINFÜHRUNG

Aminomethylierende Verbindungen (I) hemmen das Wachstum von Tumoren (26, 41, 49, 50).



$\text{X} = -\text{OH}, -\text{OR}, -\text{SR}, -\text{SO}_3\text{Na}, -\text{C}\equiv\text{N}, -\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{l} \text{R} \\ \text{R} \end{array}$
 $\text{R} = \text{Alkyl}$

Ihre Wirkung beruht ähnlich wie die von Stickstofflostderivaten auf einer Alkylierung biologisch bedeutsamer Substrate (HY) (siehe auch Formelschema S. 8).

Die ersten Untersuchungen über die cytostatische Wirkung α -aminoalkylierender Stoffe wurden von J.A.HENDRY und Mitarbeitern (26) am Beispiel verschiedenartiger Hydroxymethylamin-, Methoxymethylamin-, Chlormethylamin- und Dialkylaminomethylaminverbindungen ^{x)} durchgeführt. Ausgangspunkt dieser Studien war die Überlegung, daß ähnlich wie bei Urethanen - für sie wurde eine Reaktion mit H-aciden Gruppen in physiologisch wichtigen Verbindungen angenommen (26) - auch bei diesen Stoffen eine Umsetzung in der oben formulierten Art zustandekommt. Als wirksam erwiesen sich unter einer großen Zahl geprüfter Verbindungen im wesentlichen nur die Derivate des Melamins und Guanamins und unter diesen besonders das N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin mit einer 100proz. Wachstumshemmung am Walker-Tumor der Ratte.

^{x)} Z.B.: N-Hydroxymethyl-harnstoff, N, N'-Di-hydroxymethyl-harnstoff, N, N'-Di-methoxymethyl-harnstoff, N, N'-Di-hydroxymethyl-diketopiperazin, N, N'-Di-hydroxymethyl-5-methyl-5-phenyl-hydantoin, N, N'-Di-hydroxymethyl-diphenyl-malonsäureamid, N, N'-Di-hydroxymethyl-adipinsäureamid, N, N', N''-Tri-chlormethyl-isocyanursäure, N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin, N, N', N''-Tri-methoxymethyl-melamin, N, N'-Bis-diäthylaminomethyl-melamin

Ganz ähnliche Ergebnisse mit dieser Substanz erzielten O. EICHLER und Mitarbeiter (14, 15, 16) beim Mäuseascitestumor und beim Walker-Carcinom der Ratte.

Bei unseren eigenen Untersuchungen (Verbindung Nr. 1 in Tabelle 8, S. 40. Siehe auch Abb. 1, S. 44) am Ehrlichschen Mäuseascitestumor zeigte sich jedoch keine signifikante Wirkung.

Auch H. DRUCKREY und Mitarbeiter (12) fanden die gleiche Verbindung gegenüber dem Yoshida-Ascites-Sarkom, dem Jensen-Sarkom und dem Walker-256-Carcinom völlig wirkungslos.

Bedeutsam für das Zustandekommen einer optimalen cytostatischen Wirkung bei den Hydroxymethyl-melaminen ist die Anzahl der am Melamin substituierten Hydroxymethylgruppen (J.A. HENDRY (23, 37)). Das Wirkungsoptimum liegt bei der dreifach substituierten Verbindung N,N',N''-Tri-hydroxymethyl-melamin. Die aus diesen Versuchen entwickelte Wirkungstheorie nimmt die Bildung polymerer Ketten unter Beteiligung von zwei Hydroxymethylgruppen an. Diese tragen in Abständen die annähernd ein Vielfaches von 3.7 Å betragen, Hydroxymethylgruppen. Sie sind für die Bindung an Zellbestandteile verantwortlich.

Da die von J.A. HENDRY und Mitarbeitern (26) als gut wirksam befundenen Verbindungen ausschließlich der Klasse der Melamine und Guanamine angehören, wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob die cytostatischen Eigenschaften dieser Stoffe auf der Melamin- bzw. auf der Guanamin-Struktur beruhen, oder ob bei α -Aminoalkylantien derartige Effekte ganz allgemein zu erwarten sind. Weiterhin war zu klären, inwieweit bei dieser Stoffklasse einer monomeren oder einer polymeren Wirkform der Vorzug zu geben ist. Es wurde daher eine größere Zahl derartiger Verbindungen mit 1, 2, 3, 4 und 6 reaktiven Zentren synthetisiert und auf ihre carcinostatische Wirkung gegenüber dem Ehrlichschen Mäuseascitestumor geprüft.

B. EIGENE BEFUNDE

Die Prüfung der carcinostatistischen Eigenschaften von α -Aminoalkylierungsmitteln erfolgte an Verbindungen, die der Klasse der 1, 3, 5-Triazine, Äthylendiamine und Imidazolidine angehören und 1, 2, 3, 4 oder 6 reaktive Zentren der Formel $\text{>N-CH}_2\text{-X}$ aufweisen. Als X wurden die Reste -OH, -SR, $\text{-SO}_3\text{Na}$, $\text{-C}\equiv\text{N}$ und $\text{-N}<\overset{\text{R}}{\text{R}}$ verwendet. Neben diesen Substanzen wurde noch eine Reihe monofunktioneller Stoffe von unterschiedlicher Struktur - darunter einige Benzylidenamine - getestet. Die Formeln und Bezeichnungen der geprüften Substanzen sind in Tabelle 1 (S.4-6) zusammengefaßt.

Auf Grund der Versuchsergebnisse - die wirksamsten Vertreter Nr. 11, 13, 14, 15 und 16 sind mono- und bifunktionelle Verbindungen (siehe Tabelle 8, S. 40 und Tabelle 9, S. 42) - wird einer monomeren Wirkform der Vorzug gegeben. Darüberhinaus zeigen die Experimente, daß Verbindungen aus der Klasse der α -Aminoalkylantien ganz allgemein tumorhemmende Eigenschaften besitzen, wenn sie bestimmte später noch zu erläuternde strukturelle Voraussetzungen erfüllen (siehe S. 11-14). Als gut wirksam erwiesen sich diejenigen Verbindungen^{x)}, die als Rest X eine -SR, $\text{-N}<\overset{\text{R}}{\text{R}}$ (siehe auch (50)) oder -OH (26, 49) Gruppierung tragen.

Der ausgeprägte cytostatische Effekt monofunktioneller α -Aminoalkylierungsmittel wurde auch von G. WEITZEL und Mitarbeitern (49, 50) am Beispiel von Hydroxymethylaminen und Aminen beschrieben. Die Autoren erkannten, daß diese Substanzen ihre biologische Wirkung durch Alkylierung entfalten. Sie konnten zeigen, daß die Wirkungsgröße ihrer Verbindungen gegenüber dem Ehrlichschen Mäuseascitestumor mit deren Reaktionsgeschwindigkeit - gemessen an der Alkylierung von Cystein und Glutathion - übereinstimmt. Die SH-Fermente Alkohol-Dehydrogenase, Aldolase und Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase scheiden jedoch nach Untersuchungen dieser Autoren als Angriffspunkt der aminomethylierenden Stoffe aus^{xx)}. Die beobachtete Hemmung der anaeroben Glykolyse von Asciteskrebszellen beruht ähnlich wie bei anderen Alkylantien auf einer Beeinflussung der NAD^+ -Synthese (31). Die Bestimmung der Metabolitenkonzentration im Ascites nach Verabreichung α -aminoalkylierender Mittel ergab eine Verringerung der NAD^+ - und ATP-Konzentration, sowie einen Anstieg der Nicotinsäureamid-, Fructosediphosphat- und Triosephosphatmenge. Nach vorheriger Verabreichung von Nicotinamid traten derartige Veränderungen nicht ein (49).

x) Verbindungen Nr. 11, 13, 14, 15 und 16.

xx) Allerdings führten G. WEITZEL und Mitarbeiter (49) die Alkylierungsreaktion mit den SH-Verbindungen Cystein und Glutathion bei einem pH-Wert von 7.1 durch, was den Verhältnissen in der Tumorzelle, deren pH-Wert bei annähernd 6 bis 6.9 (30, 46, 36) liegt, durchaus nicht entspricht. Im sauren Milieu bleibt die SH-Gruppe weitgehend undissoziiert, eine Alkylierung findet unter diesen Bedingungen weniger leicht statt (39), womit sich die Beobachtung, daß zwar in vitro (bei pH 7.1) eine Alkylierung von Cystein und Glutathion stattfindet, in vivo (bei pH 6-6.9) eine Reaktion mit SH-Fermenten jedoch ausbleibt, erklären läßt.

Tabelle 1: α -Aminoalkylantien

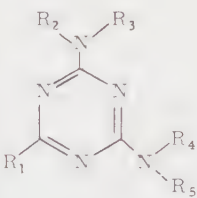
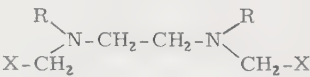
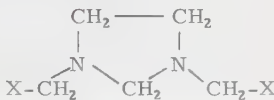
Nr.	Substanz	Struktur
1	N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin $R_1 = \text{NHCH}_2\text{OH}$ $R_2, R_4 = \text{H}$ $R_3, R_5 = \text{CH}_2\text{OH}$	
2	N, N, N', N', N'', N''-Hexa-methoxymethyl-melamin $R_1 = \text{N}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2$ $R_2, R_3, R_4, R_5 = \text{CH}_2\text{OCH}_3$	
3	N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin $R_1 = \text{N}(\text{CH}_2\text{SC}_2\text{H}_5)_2$ $R_2, R_3, R_4, R_5 = \text{CH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$	
4	Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonsaures Natrium $R_1 = \text{NHCH}_2\text{SO}_3\text{Na}$ $R_2, R_4 = \text{H}$ $R_3, R_5 = \text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$	
5	N, N'-Di-cyanomethyl-melamin $R_1 = \text{NH}_2$ $R_2, R_4 = \text{H}$ $R_3, R_5 = \text{CH}_2\text{CN}$	
6	2-Chlor-4.6-di-cyanomethylamino-1, 3, 5-triazin $R_1 = \text{Cl}$ $R_2, R_4 = \text{H}$ $R_3, R_5 = \text{CH}_2\text{CN}$	

Tabelle 1: Fortsetzung

Nr.	Substanz	Struktur
7	N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin R = CH₂SC₂H₅ X = SC₂H₅	
8	Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonsaures Natrium R = CH₂SO₃Na X = SO₃Na	
9	N, N, N', N'-Tetra-cyanomethyl-äthylendiamin R = CH₂CN X = CN	
10	N, N'-Dimethyl-N, N'-di-cyanomethyl-äthylendiamin R = CH₃ X = CN	
11	N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamin R = CH₃ X = SC₂H₅	
12	N, N'-Dimethyl-äthylendiamin-N, N'-di-methylsulfonsaures Natrium R = CH₃ X = SO₃Na	
13	N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin X = SC₂H₅	

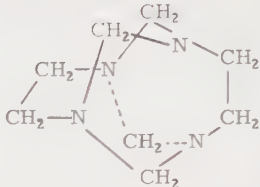
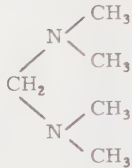
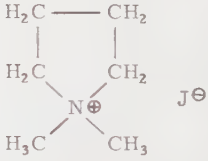
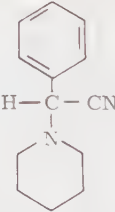
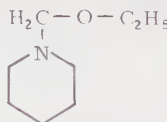
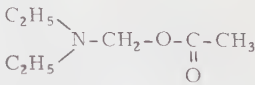
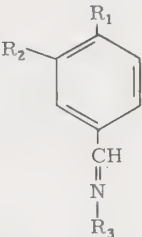
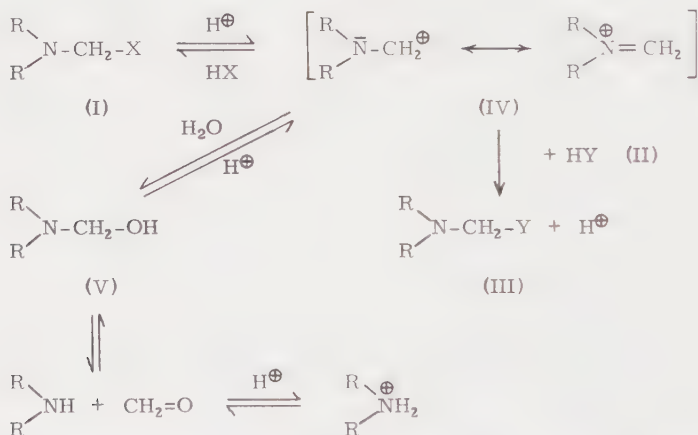
Nr.	Substanz	Struktur
14	1, 4, 6, 9-Tetraaza-tricyclo [4, 4, 1, 1, 4, 9]dodecan	
15	N, N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure- dimethylaminomethylester	
16	N, N, N', N'-Tetramethyl-diamino- methan	
17	N, N-Dimethyl-pyrrolidiniumjodid	
18	α -Phenyl- α -(1-piperidino)- acetonitril	
19	N-Äthoxymethyl-piperidin	
20	N, N-Diäthylaminomethyl- essigsäureester	

Tabelle 1: Fortsetzung

Nr.	Substanz	Struktur
21	4-Hydroxybenzyliden- β -hydroxyäthylamin $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{H}$ $R_3 = \text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$	
22	4-Hydroxybenzylidenmethylamin $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{H}$ $R_3 = \text{CH}_3$	
23	3,4-Di-hydroxybenzyliden-methylamin $R_1, R_2 = \text{OH}$ $R_3 = \text{CH}_3$	
24	Benzylidenanthranilsäure $R_1, R_2 = \text{H}$ $R_3 = $ 	

I. Die α -Aminoalkylierung biologischer Substrate

Wie bei den Stickstofflostderivaten so ist auch bei den aminomethylierenden Stoffen ein intermediär gebildetes Carbonium-Imonium-Ion (IV) ^{x)} als das eigentliche alkylierende Agens anzusehen. ^{xx)} Es ist erstaunlich, daß trotz der eingehenden Kenntnisse über den Wirkungsablauf der Stickstofflostverbindungen die chemotherapeutische Prüfung α -aminoalkylierender Stoffe erst jetzt in Angriff genommen wurde. Beachtenswert ist, daß die α -Aminoalkylierung im Gegensatz zur β - und γ -Aminoalkylierung bereits unter sehr milden, zuweilen sogar unter zellmöglichen Bedingungen stattfindet (23).



Reaktionsmechanismus aminomethylierender Verbindungen (siehe dazu (25)).

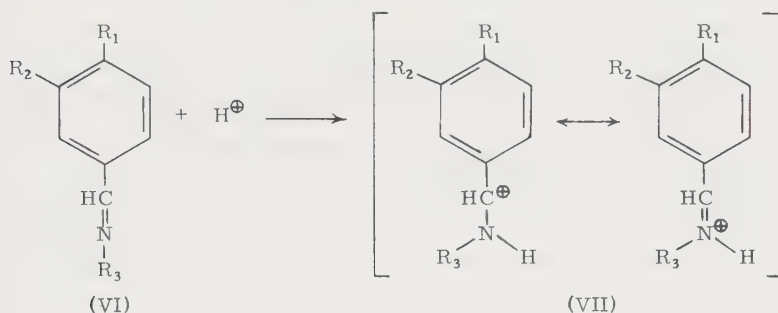
Aus der α -aminoalkylierenden Verbindung (I) entsteht in Gegenwart von Protonen das Carbonium-Imonium-Ion (IV) (es ist nur in saurer Lösung metastabil existenzfähig), das durch seine Reaktion mit biologisch bedeutsamen

x) A.HELLMANN und G.OPITZ (23) bezeichnen aminomethylierende Verbindungen als "echte oder verkappte Imonium-Verbindungen".

xx) Die Bildung der Äthylenimonium-Ionen läßt sich bei Stickstofflost durch den Anstieg der cytotoxischen Wirkung verfolgen. Diese steigt innerhalb weniger Stunden auf den 3-5fachen Betrag der frisch bereiteten Lösung an (7).

Substraten (II) hemmend in den Stoffwechsel der Tumorzelle eingreift. Diese eigentliche Alkylierungsreaktion wird von einem hydrolytischen Abbau begleitet, der über das Hydroxymethylderivat (V) zu Formaldehyd ^{x)} und Amin führt, wobei die Geschwindigkeit beider Teilreaktionen von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Aminomethylierung ist am größten bei Anwesenheit kleiner Mengen Säure, mit steigender H^+ -Konzentration überwiegt der Zerfall zu Formaldehyd und Amin.

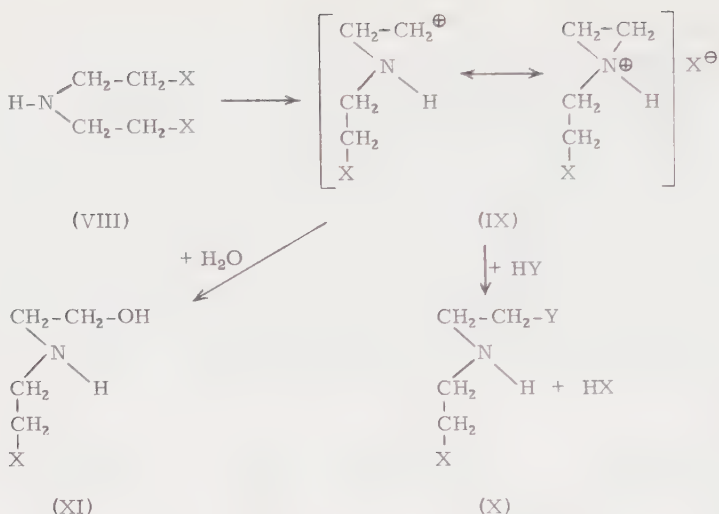
Auch die untersuchten Verbindungen vom Typ der Benzylidenamine reagieren in der oben skizzierten Weise, indem sich aus der Schiff'schen Base (VI) unter Anlagerung eines Protons das Carbonium-Imonium-Ion (VII) bildet.



Die Verbindungen Nr. 21-24 zeigten im chemotherapeutischen Test jedoch keine cytostatische Wirkung, was sich mit der vergleichsweise bedeutend geringeren aminoalkylierenden Wirkung der Schiff'schen Basen erklären läßt. (Siehe dazu (3)).

Der Wirkungsmechanismus der aminomethylierenden Stoffe entspricht weitgehend demjenigen des Stickstofflost. Auch bei diesem tritt als aminoalkylierendes Agens ein resonanzstabilisiertes Carbonium-Imonium-Ion (im Falle des N-Lost ein Carbonium-Äthylenimonium-Ion- β -Aminoalkylierung -, im Fall der aminomethylierenden Verbindungen ein Carbonium-Methylenimonium-Ion- α -Aminoalkylierung) auf.

^{x)} Zur cytostatischen Wirkung des Formaldehyds, besonders in Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus α -aminoalkylierender Verbindungen, siehe G. WEITZEL (49).



Reaktionsmechanismus von Stickstofflost

Die Ähnlichkeit der Reaktionsmechanismen dieser beiden Verbindungsklassen (α -Aminoalkylierungsmittel, N-Lostderivate) erklärt sich aus ihrer engen strukturellen Verwandtschaft; sie unterscheiden sich, abgesehen vom unterschiedlichen nucleophilen Potential des Restes X (siehe S.11), durch seine Entfernung vom Stickstoff. Bei N-Lost befindet sich dieser in β -, bei den aminomethylierenden Stoffen in α -Position.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen α - und β -Aminoalkylantien besteht jedoch in der Stabilität ihrer Alkylierungsprodukte (III) und (X). Während aminomethylierende Stoffe mit biologischen Substraten weniger stabile Produkte (III) bilden - sie können im Sinne einer Transaminoalkylierung weiterreagieren -, kommt es bei der β -Aminoalkylierung zu stabilen Verbindungen (X) und somit zu einer weitgehend irreversiblen Blockierung biologisch wichtiger Gruppen. Daraus erklärt sich auch die bedeutend höhere Toxizität der N-Lostverbindungen.

II. Einfluß der Kettenlänge auf die chemische Reaktivität und cytotoxische Wirkung

Vergrößert man bei der Verbindung $\begin{smallmatrix} R \\ \diagup \\ R \end{smallmatrix} N-CH_2-X$ die Entfernung zwischen dem basischen Zentrum und dem Rest X durch Einschieben weiterer CH_2 -Gruppen, so kommt es zu einer beträchtlichen Reduzierung der Reaktivität und damit zu einer Verringerung oder zu einem Verlust der cytotoxischen Wirkung^{x)} (40). (Carcinostatische Eigenschaften besitzen nur Verbindungen mit einem $-CH_2-$ oder $-CH_2-CH_2-$ Glied zwischen N und X). Die Reaktionsgeschwindigkeit aminoalkylierender Verbindungen ist abhängig von der Beweglichkeit des Restes X, sie nimmt mit abnehmender Entfernung N-X zu. Diese Tatsache erklärt die große Reaktionsfähigkeit der α -Aminoalkylierungsmittel, die, wie schon erwähnt, im Gegensatz zu β - oder γ -Aminoalkylantien bereits unter milden, zuweilen sogar unter zellmöglichen Bedingungen reagieren (23, 25).

III. Einfluß der Gruppe X auf die chemische Reaktivität und cytotoxische Wirkung

Die Reaktionsfähigkeit aminomethylierender Verbindungen (d.h. die Fähigkeit Carbonium-Imonium-Ionen mehr oder weniger leicht zu bilden) ist daneben aber auch weitgehend vom nucleophilen Potential der Komponente X abhängig. Das nucleophile Potential und damit die Stabilität der Verbindung nimmt in der Reihenfolge



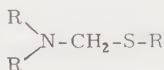
von links nach rechts zu (25), die Fähigkeit zur Aminoalkylierung dagegen ab. Bei den Halogenmethyaminen ist auf Grund der geringen Nucleophilie von X die Ausbildung einer homöopolaren Halogen-Kohlenstoff-Bindung nicht möglich; Verbindungen dieses Typs sind wenig stabil und daher für eine therapeutische Verwendung nicht geeignet. Selbst bei den β -Halogenalkylaminen ist diese Reaktionsfähigkeit noch so stark ausgeprägt, daß

x) Unwirksam sind z.B. die Verbindungen der Formel

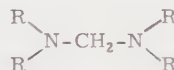
$$\begin{array}{ccc} Cl(CH_2)_4 & & Cl(CH_2)_4 \\ & \diagdown & \diagup \\ & N-H & N-P(=O)(O-CH_2-CH_2) \\ & \diagup & \diagdown \\ Cl(CH_2)_4 & & Cl(CH_2)_4 \end{array} \quad (2), \text{ sowie}$$

$$\begin{array}{ccc} R-N \begin{smallmatrix} (CH_2)_3Cl \\ \diagup \\ (CH_2)_3Cl \end{smallmatrix} & \text{und} & R-N \begin{smallmatrix} (CH_2)_6Cl \\ \diagup \\ (CH_2)_6Cl \end{smallmatrix} \end{array} \quad (40)$$

es in wäßriger Lösung zur Bildung von Carbonium-Imonium-Ionen kommt, wie Untersuchungen an Verbindungen vom Typ des Stickstofflost ergeben haben (38, 7). Auch die Hydroxymethylamine sind hoch reaktiv, obwohl sie sich bereits in reiner Form gewinnen lassen. Für eine Verwendung als Chemotherapeutika sind Verbindungen wie die Alkylthiomethylamine (XII) und die Dialkylaminomethylamine (XIII)



(XII)



(XIII)

vorzuziehen, da sie durch ihre größere Stabilität in ausreichender Menge in das Tumorgewebe gelangen.

IV. Anwendung des Prinzips "Transportform-Wirkform" bei α -Aminoalkylierungsmitteln

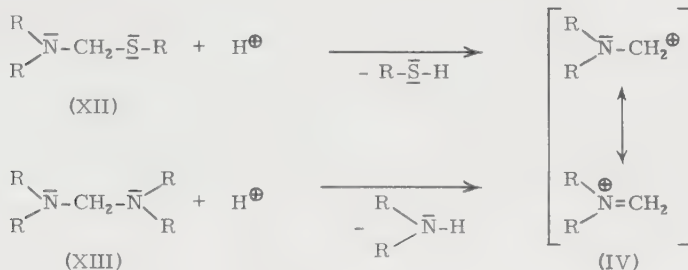
Die Suche nach wirksamen Chemotherapeutika bei der Behandlung von Tumoren wird erheblich erschwert durch die Tatsache, daß sich nach unserem heutigen Wissen normale und maligne Zellen in ihren Stoffwechselvorgängen nur quantitativ unterscheiden. Die Folge davon ist, daß die meisten der heute angewendeten Pharmaka nicht nur die Krebszelle, sondern auch die gesunde Zelle schädigen und somit eine hohe Toxizität aufweisen.

Eine gezielte Beeinflussung von Tumoren läßt sich mit Stoffen erreichen, die in der Tumorzelle angereichert werden, oder die dort eine gesteigerte Reaktivität erlangen. ^{x)}

Die in dieser Arbeit synthetisierten Alkylthiomethylamine und Dialkylaminomethylamine besitzen eine verstärkte Reaktionsfähigkeit im Tumorgewebe.

x) Eine Verbindung, die sich im Krebsgewebe anreichert, ist das Stilböstroldiphosphat (Honvan® Asta), das in der Therapie des Prostatacarcinoms verwendet wird (13). Das Stilböstroldiphosphat ist gut wasserlöslich; es besitzt keine cytostatische Wirkung. Im Prostatacarcinomgewebe wird es auf Grund der dort stark erhöhten Aktivität der sauren Phosphatase in das schwerlösliche cytostatisch wirksame Stilböstrol und in Phosphorsäure gespalten. Die damit verbundene Anreicherung im Tumor führt zu einem selektiven Angriff auf die Krebszelle. Man spricht hier von einem "Transportform-Wirkform-Prinzip".

Sie beruht auf einer bevorzugten Bildung der wirksamen Carbonium-Imonium-Ionen in der sauren Krebszelle ^{x)}. Die freien Elektronenpaare von Stickstoff und Schwefel ermöglichen bei diesen Substanzen eine leichte Lösung der Bindung CH₂-X (25).



Dabei kommt es primär zu einer Anlagerung von Protonen an diese Atome, die von einer Abspaltung des Merkaptans bzw. des Amins begleitet ist und zur Entstehung von Carbonium-Imonium-Ionen führt. Das eigentliche aminoalkylierende Agens, das Carbonium-Imonium-Ion, wird also auf Grund der erhöhten Wasserstoffionenkonzentration im Tumor in erheblich größerer Menge gebildet, was eine starke Erhöhung der α -Aminoalkylierungsgeschwindigkeit bedeutet ^{xx)}. Daraus resultiert eine spezifische Wirkung dieser Stoffe gegenüber malignen Zellen.

Bei den Aminonitrilen und Aminomethylsulfonaten, die gegenüber dem Angriff von Wasserstoffionen wenig empfindlich sind, ist eine verzögerte Ausbildung des Carbonium-Imonium-Ions anzunehmen. Interessanterweise zeigen diese Verbindungen auch eine geringere Wirkung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor. (Siehe Tabelle 8, S. 40-41 und Tabelle 9, S. 42-43)

Die leichter hydrolysierbaren Alkylthiomethylamin- und Dialkylaminomethylaminderivate sind dagegen - abgesehen von den Verbindungen, die auf Grund

^{x)} Im Gegensatz zu normalen Zellen, die einen pH-Wert von 7.4 besitzen, beobachtet man in malignen Zellen als Folge der stark erhöhten anaeroben Glykolyse (48) eine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration in den sauren Bereich von pH 6.9 bis 6.0 (30, 46, 36).

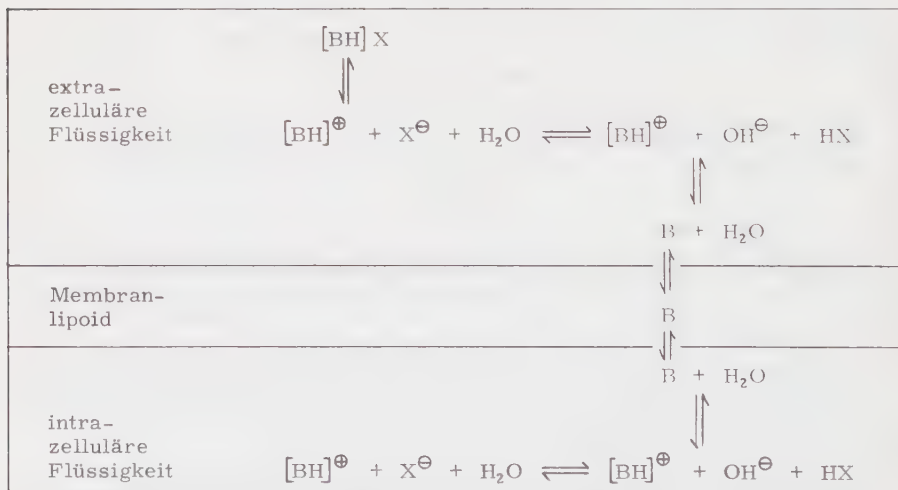
^{xx)} Auch ein weiterer Zerfall des Carbonium-Imonium-Ions zu Formaldehyd, der ebenfalls eine wenn auch relativ geringe cytotatische Wirkung besitzt, ist gemäß Schema S.8 möglicherweise am Wirkungsgeschehen beteiligt. (Siehe dazu G. WEITZEL und Mitarbeiter (49)).

ihrer geringen Wasserlöslichkeit die ausreichende Konzentration in der Tumorzelle nicht erreichen - sehr gut wirksam.

Im Gegensatz zu Aminomethylierungsmitteln kommt es bei den aliphatischen N-Lostderivaten bei Erhöhung des pH-Wertes zu einer Reduzierung der Reaktionsfähigkeit, da die kationische Form nicht in das reaktive Äthylenimonium-Ion übergehen kann (39). Diese Tatsache erklärt vielleicht die geringe therapeutische Breite von Stickstofflostderivaten.

V. Zur Frage der Anreicherung α -aminoalkylierender Verbindungen im Tumor

Da es sich bei den α -Aminoalkylierungsmitteln um basische Verbindungen handelt, ist eine Anreicherung im Tumor auf Grund ihres Verteilungsverhaltens möglich. Um in das Zellinnere einzudringen, muß das Pharmakon zuerst aus der wäßrigen extrazellulären Flüssigkeit in die Lipoidschicht der Membran und von dort in einem zweiten Schritt in die wäßrige Phase der Zelle übertreten ^{x)}. Schwache organische Säuren und Basen durchdringen die Membran als undissoziierte Moleküle (35, 44). Der Ionisationsgrad dieser Moleküle und der pH-Wert der extra- und intrazellulären Flüssigkeit ist daher für die Permeation von großer Bedeutung. Die Konzentration eines Arzneimittels ist innerhalb und außerhalb der Zelle gleich groß, wenn die extra- und intrazelluläre Flüssigkeit Isotonie und gleiche pH-Werte aufweisen und das Pharmakon in der Zelle keine Veränderung, z.B. im Sinne



^{x)} Nach J.F. DANIELLI (11) besteht die Zellmembran aus einer bimolekularen Schicht von Lipoidmolekülen, die auf der Innen- und Außenseite von Protein- oder Mucoproteinmolekülen bedeckt ist.

einer Komplexbildung oder verstärkten Ionisation, erfährt. Der Zelleintritt und der Zellaustritt des Pharmakons findet dabei über zwei miteinander korrespondierende Verteilungsgleichgewichte statt, nämlich

extrazelluläre Flüssigkeit/Membranlipoid
Membranlipoid/intrazelluläre Flüssigkeit.

Die Anreicherung einer Base in der sauren Tumorzelle ergibt sich nun aus folgender Überlegung (siehe auch 36, 8):

Bei der Verteilung eines Amins (B) oder eines Aminsalzes (BHX) unterliegt nur die im Gleichgewicht vorhandene freie Base (B) der Verteilung. Das Verteilungsverhältnis

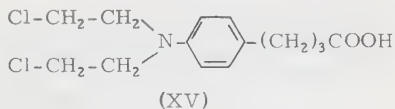
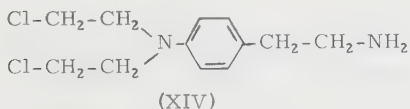
$$K = \frac{\text{Pharmakonzentration im Membranlipoid}}{\text{Pharmakonzentration in der extra- (bzw. intra-) zellulären Flüssigkeit}}$$

ist dabei abhängig vom individuellen Verteilungskoeffizienten k_o der Base, von ihrer Dissoziationskonstante k' und vom pH-Wert der extrazellulären bzw. der intrazellulären Flüssigkeit. Wie aus der Gleichung (siehe dazu (22))

$$K = \frac{k_o}{1 + \frac{k'}{[\text{OH}^\ominus]}}$$

hervorgeht, verkleinert sich mit abnehmender Hydroxylionenkonzentration der Verteilungskoeffizient der Base, ihre Konzentration in der Wasserphase nimmt zu. Ganz entsprechend kommt es in der Tumorzelle auf Grund ihres niedrigen pH-Wertes über die beiden korrespondierenden Verteilungsgleichgewichte zu einer Anreicherung des Pharmakons ^{x)}.

x) Einen Hinweis für die Richtigkeit dieser Annahme liefert die Beobachtung, daß die cytostatische Wirkung der basischen Verbindung (XIV) ansteigt, wenn man den pH-Wert in der Tumorzelle durch Glukoseapplikation weiter



erniedrigt. Diese Versuche wurden am Walker-Carcinom der Ratte durchgeführt. Unter den gleichen Versuchsbedingungen beobachtet man bei der sauren Verbindung Chlorambucil (XV) keine Wirkungssteigerung (39).

VI. Diskussion

Die bisherigen Ausführungen haben gezeigt, daß für Stickstofflost und für die α -Aminoalkylierungsmittel der gleiche Wirkungsmechanismus anzunehmen ist. Beide Verbindungstypen gehören in die Verbindungsklasse der Aminoalkylantien. Im Gegensatz zu den β -Aminoalkylantien, die nur verhältnismäßig wenige wirksame Vertreter aufweisen - nämlich die β -Chloräthylaminderivate - ist bei den α -Aminoalkylantien mit der Auffindung einer großen Zahl hochwirksamer Verbindungen zu rechnen. Der beachtenswerte Vorzug dieser α -aminoalkylierenden Stoffe ist ihre geringe Toxizität, die auf eine reversible Blockierung biologisch bedeutsamer Substrate zurückzuführen ist ^{x)}.

Gute carcinostatische Eigenschaften besitzen α -Aminoalkylantien, die sich bei ausreichender Wasserlöslichkeit und Stabilität durch eine große Reaktionsfähigkeit auszeichnen. Diese ist gegeben, wenn -OH, -SR und $-\text{N}^{\text{R}}_{\text{R}}$ -Gruppen den Rest X bilden. Dabei ist den Gruppierungen -SR und $-\text{N}^{\text{R}}_{\text{R}}$ der Vorzug zu geben, da die Alkylthiomethylamine und Dialkylaminomethylamine bei einer verhältnismäßig großen Stabilität noch eine erhebliche Wirkung aufweisen. Diese beiden Verbindungen sind als Transportformen zu betrachten, die in der sauren Tumorzelle in die Wirkform, das Carbonium-Imonium-Ion, übergehen. Darüberhinaus ist für diese Verbindungen auf Grund ihrer basischen Eigenschaften eine Anreicherung im Krebsgewebe anzunehmen.

^{x)} Es ist anzunehmen, daß die mit dem Substrat gebildeten Produkte den Aminomethylrest im Sinne einer Transaminoalkylierung auf andere H-acide Stoffe weiterübertragen können.

C. HERSTELLUNG DER α -AMINOALKYLANTIEN

I. Herstellung von N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin (43)

0.33 Mol Melamin werden mit der berechneten Menge wäßriger Formaldehydlösung (30proz.) versetzt und mit Natriumbikarbonat auf pH 8-9 eingestellt. Man erwärmt auf 70-80° und rührt kräftig, bis nach wenigen Minuten eine klare Lösung entsteht. Diese wird sofort stark abgekühlt und das als farbloser kristalliner Niederschlag ausgefallene Methylolmelamin abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet.

Farblose Kristalle. Fp = 130-160°C.

Ausbeute 43.8 g, entsprechend 60.1% der Theorie.

$C_6H_{12}N_6O_3$ (216.09)

Ber. C 33.33% H 5.59% N 38.87%

Gef. C 33.28% H 5.32% N 39.64%

II. Herstellung von N, N, N', N', N'', N''-Hexa-methoxymethyl-melamin (19)

0.1 Mol N, N, N', N', N'', N''-Hexa-hydroxymethyl-melamin (hergestellt entsprechend I) wird mit 200 ml Methanol und unter kräftigem Rühren mit 10 ml konzentrierter Salzsäure versetzt. Nach wenigen Minuten tritt Auflösung ein. Nach weiteren 8 Minuten wird mit Natriumbikarbonat neutralisiert und die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft. Zur Entfernung der anorganischen Salze nimmt man den Rückstand mit Benzol auf, man filtriert und kristallisiert nach dem Abdestillieren des Benzols aus Petroläther um.

Farblose Nadeln. Fp = 47-49°C.

Ausbeute 25.6 g, entsprechend 65.5% der Theorie.

$C_{15}H_{30}N_6O_6$ (390.4)

Ber. C 46.14% H 7.74% N 21.52%

Gef. C 45.72% H 7.48% N 21.78%

III. Herstellung von Aminomethylsulfonaten

Zur Darstellung der Verbindungen 1 und 2 werden 0.6 Mol Natriumbisulfit in wenig Wasser gelöst, mit 0.6 Mol einer 37proz. Formaldehydlösung versetzt und unter Rühren 45 Minuten auf 75° erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit etwas Äthanol versetzt und die Mischung einige Stunden lang geschüttelt, wobei sich das entstandene Natriumhydroxymethylsulfonat in farblosen

Kristallen abscheidet (Ausbeute ca. 90%). Zu einer Lösung von 0.5 Mol Hydroxymethylsulfonat in 125 ml Wasser gibt man die 0.6 Mol entsprechende Menge Amin in 75 ml Wasser und erwärmt 2-3 Stunden unter Rühren auf 80-100°. Nach dem Abkühlen wird das Produkt mit Methanol oder Äthanol ausgefällt und umkristallisiert.

1. Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonsaures Natrium (32)

Farblose hygroskopische Kristalle (aus 70proz. Methanol).

Ausbeute 43.3 g, entsprechend 66.2% der Theorie.

$C_6H_{12}N_2Na_4O_{12}S_4$ (524.4)

Ber. C 13.74% H 2.30% N 5.34% S 24.45%

Gef. C 13.53% H 2.84% N 5.27% S 22.97%

2. N, N'-Dimethyl-äthylendiamin-N, N'-di-methylsulfonsaures Natrium

Farblose, stark hygroskopische, glänzende Kristalle (aus 80proz. Äthanol).

Ausbeute 70.2 g, entsprechend 87.6% der Theorie.

$C_6H_{14}N_2Na_2O_6S_2$ (320.3)

Ber. C 22.49% H 4.40% N 8.74% S 20.02%

Gef. C 21.29% H 4.90% N 8.31% S 18.86%

3. Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonsaures Natrium

Bei dem Versuch 0.1 Mol Melamin mit 0.3 Mol Hydroxymethylsulfonat entsprechend 1. und 2. zum Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonsauren Natrium umzusetzen trat keine Reaktion ein.

Zu seiner Darstellung werden 0.166 Mol N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin mit einer Lösung von 0.5 Mol Natriumbisulfit in 150 ml Wasser 2 Stunden bei 70° gerührt. Nach dem Abkühlen fällt man das Produkt mit Methanol aus, nutsch ab, wäscht mit Methanol und trocknet scharf.

Farbloses, hygroskopisches, kristallines Salz.

Ausbeute 52.0 g, entsprechend 65.8% der Theorie.

$C_6H_9N_6Na_3O_9S_3$ (474.3)

Ber. C 15.19% H 1.91% N 17.71%

Gef. C 15.61% H 1.94% N 17.39%

IV. Herstellung von Äthylthiomethylaminen

1. N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin

0.1 Mol rohes N, N, N', N', N'', N''-Hexa-hydroxymethyl-melamin wird fein verrieben und mit 100 ml Äthylmerkaptan und 10 ml konzentrierter Salzsäure versetzt. Die unter Aufsieden einsetzende Reaktion mäßigt man durch Kühlen im Eisbad. Nach ihrem Abklingen wird unter Rühren 3-4 Stunden auf dem Wasserbad bis zur Auflösung des N, N, N', N', N'', N''-Hexa-hydroxymethyl-melamin erwärmt. Die mit Natriumsulfat getrocknete Oberphase destilliert man nach dem Abziehen des überschüssigen Äthylmerkaptans im Wasserstrahlvakuum. Man erhält 18,5 g eines farblosen Öls vom $\text{Sdp}_{20} = 71-72^{\circ}$, das als Methylen-äthylmerkaptan identifiziert wurde.

Methylen-di-äthylmerkaptan: $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{S}_2$ (136.2)

Ber. C 44.06% H 8.87% S 47.05%

Gef. C 43.86% H 8.80% S 45.95%

Zurück bleibt das N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin als hochviskoses klares gelbes Öl, das beim Abkühlen langsam erstarrt.

Farblose Nadeln von süßlichem Geruch (aus Aceton). $\text{Fp} = 58-60^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute 45.0 g, entsprechend 78.8% der Theorie.

$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{S}_6$ (570.9)

Ber. C 44.17% H 7.42% N 14.71% S 33.69%

Gef. C 43.92% H 7.22% N 15.41% S 33.53%

2. N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamin

Das Gemisch aus 0.25 Mol Amin und überschüssigem Äthylmerkaptan wird mit der berechneten Menge Paraformaldehyd versetzt und die heftig einsetzende Reaktion durch Kühlen im Eisbad gemäßigt. Nach ihrem Abklingen wird 4 Stunden unter Erwärmen auf dem Wasserbad gerührt, bis der Paraformaldehyd vollständig in Lösung gegangen ist. Man läßt über Nacht stehen, trennt vom Reaktionswasser ab, trocknet mit Natriumsulfat, filtriert und unterwirft das Produkt nach dem Abziehen des überschüssigen Äthylmerkaptans der Vakuumdestillation.

Base: Farbloses bis gelbliches Öl von knoblauchartigem Geruch.

$\text{Sdp}_{18} = 170-171^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute 39.2 g, entsprechend 66.3% der Theorie.

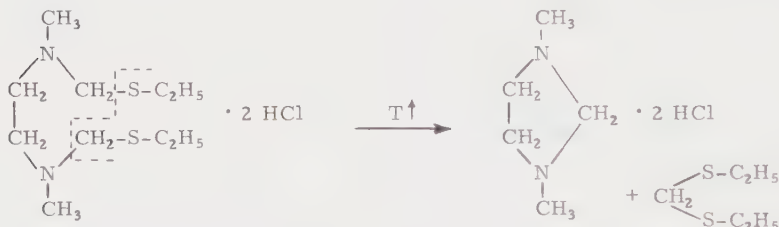
$C_{10}H_{24}N_2S_2$ (236.4)

Ber. C 50.80% H 10.23% N 11.84% S 27.12%

Gef. C 50.85% H 10.24% N 11.73% S 26.97%

Hydrochlorid: Farblose Kristalle. Fp = 141-142°C (Z)

Das Hydrochlorid des N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamins schmilzt unter Braunfärbung zwischen 141 und 142°C, oberhalb 150° erstarrt die Schmelze zum Teil wieder kristallin, um bei einer Temperatur von über 200° erneut zu schmelzen. Dabei tritt folgende Reaktion ein:



Das entstandene Di-äthylthio-methan konnte gaschromatographisch, sowie durch Siedepunkt und Elementaranalyse identifiziert werden. Aus dem Rückstand wurde als Abbauprodukt des intermediär entstandenen N, N'-Dimethyl-imidazolidin-dihydrochlorids N, N'-Dimethyl-äthylendiamin-dihydrochlorid isoliert.

N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamindihydrochlorid wird in wäßriger Lösung langsam in die Ausgangsstoffe gespalten. Auch beim Umkristallisieren aus nicht völlig wasserfreiem Methanol erhält man als letzte Fraktion das N, N'-Di-methyl-äthylendiamindihydrochlorid in farblosen Blättchen vom Fp = 230-235°C.

$C_4H_{12}N_2 \cdot 2 \text{HCl}$ (161.07)

Ber. C 29.82% H 8.76% N 17.39%

Gef. C 29.88% H 8.75% N 17.05%

3. N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin

Dargestellt wie IV, 2 aus 0.33 Mol Amin

Base: Farbloses Öl von knoblauchartigem Geruch, das sich beim Stehen langsam gelb färbt.

Sdp.₁₄ = 167-170°C.

Ausbeute 66,6 g, entsprechend 90,6% der Theorie.

C₉H₂₀N₂S₂ (220,4)

Ber. C 49,04% H 9,14% N 12,71% S 29,09%

Gef. C 48,95% H 8,71% N 12,75% S 28,91%

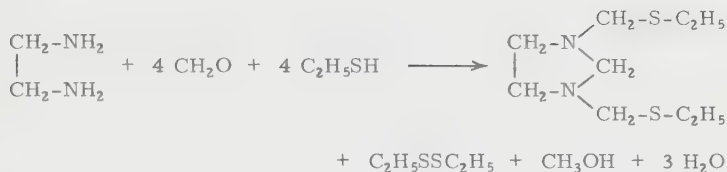
Gef. M.G. kryoskopisch in Benzol 252,6

Gef. M.G. nach Rast 246,6

Hydrochlorid: Farblose Kristalle. Fp = 146-149°.

4. N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin

Setzt man entsprechend Verfahren IV, 2 0,25 Mol Äthylendiamin mit 1 Mol Paraformaldehyd und Äthylmerkaptan im Überschuß (4 Mol) um, so erhält man nicht das N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin, sondern das Imidazolidinderivat IV, 3 in einer Ausbeute von 27,2% der Theorie. Der überschüssige Paraformaldehyd oxydiert noch vorhandenes Äthylmerkaptan teilweise zum Diäthyldisulfid (14,3% d. Theorie aus 0,25 Mol Paraformaldehyd):



Imidazolidinderivat: Farbloses Öl. Sdp._{0,3} = 105-106°C (siehe IV, 3).

C₉H₂₀N₂S₂ (220,4)

Ber. C 49,04% H 9,14% N 12,71% S 29,09%

Gef. C 49,15% H 8,92% N 13,05% S 28,82%

Diäthyldisulfid: Farbloses Öl. Sdp. = 150-151,5°C.

C₄H₁₀S₂ (122,2)

Ber. C 39,29% H 8,24% S 52,45%

Gef. C 39,55% H 8,35% S 52,05%

Zur Darstellung von N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin wird eine Lösung von 0,05 Mol Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonat (III, 1) in 50 ml Wasser mit 50 ml Äthylmerkaptan und einer Lösung von

0.22 Mol Natriumhydroxyd in 50 ml Wasser unter Erwärmen auf dem Wasserbad 6 Stunden gerührt. Nach dem Stehen über Nacht trennt man die Oberphase ab, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert nach dem Abziehen des überschüssigen Äthylmerkaptans im Hochvakuum. Man gewinnt 2 Fraktionen:

a. N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin (siehe dazu IV, 3):

Farbloses Öl. $\text{Sdp}_{0.2} = 100-101^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute 4.5 g, entsprechend 40.9% der Theorie.

b. N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin:

Hellgelbes Öl von knoblauchartigem Geruch. $\text{Sdp}_{0.3} = 169-174^{\circ}\text{C}$,

$\text{Fp} = + 8^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute 5.4 g, entsprechend 30.2% der Theorie.

$\text{C}_{14}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{S}_4$ (356.6)

Ber. C 47.14% H 9.04% N 7.85% S 35.96%

Gef. C 47.22% H 9.39% N 8.21% S 35.58%

Verwendet man bei der Umsetzung weniger Wasser als Lösungsmittel und destilliert das Rohprodukt bei niedrigerem Druck als 0.2 mm, so läßt sich die Ausbeute an N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin auf 60-70% erhöhen. Bei höherem Druck kommt es zur Zersetzung.

V. Herstellung von Cyanomethylaminen

1. N, N, N', N'-Tetra-cyanomethyl-äthylendiamin (45)

In eine Vorlage bestehend aus 0.5 Mol Amin, der berechneten Menge Formaldehydlösung (30proz.) und Schwefelsäure läßt man unter Kühlen und Rühren einen kleinen Überschuß Natriumcyanid als 34proz. Lösung langsam eintropfen. Dann wird 5 bis 24 Stunden auf 40° erwärmt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsprodukt abgenutscht oder aus der alkalisch gemachten Lösung mit Äther ausgeschüttelt.

Farblose Kristalle (aus Wasser). $\text{Fp} = 128.5-129^{\circ}\text{C}$.

Ausbeute 46.5 g, entsprechend 86.0% der Theorie.

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_6$ (216.2)

Ber. C 55.53% H 5.59% N 38.86%

Gef. C 55.07% (Rst.) H 5.69% N 38.26% (Rst.)

2. N, N'-Dimethyl-N, N'-di-cyanomethyl-äthylendiamin

Dargestellt wie V, 1 aus 0.25 Mol Amin.

Farblose Kristalle (aus Äther). Fp = 79°C.

Ausbeute 33.3 g, entsprechend 80.2% der Theorie.

$C_8H_{14}N_4$ (166.2)

Ber. C 57.80% H 8.48% N 33.70%

Gef. C 57.69% H 8.38% N 33.88%

3. 2-Chlor-4.6-di-cyanomethylamino-1, 3, 5-triazin (20)

Eine Lösung von 0.1 Mol Cyanurchlorid in 100 ml Dioxan wird unter Rühren und Kühlen bei 0° langsam mit 0.3 Mol Aminoacetonitril ^{x)} und dann mit einer Aufschlämmung von 0.3 Mol Natriumbikarbonat in Wasser versetzt. Nach dreistündigem Rühren bei 0° läßt man über Nacht stehen. Das Reaktionsgemisch wird dann mit viel Wasser verdünnt, wobei das entstandene Triazinderivat vollständig ausfällt. Es wird abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Farbloses Pulver. Fp = 285-290°C (Z).

Ausbeute 21.8 g, entsprechend 97.5% der Theorie.

$C_7H_6ClN_7$ (223.6)

Ber. C 37.59% H 2.70% Cl 15.85% N 43.84%

Gef. C 37.81% H 2.74% Cl 15.30% N 43.75%

4. N, N'-Di-cyanomethyl-melamin (21)

0.1 Mol 2-Chlor-4.6-di-cyanomethylamino-1.3.5-triazin wird in 50 ml Äthanol suspendiert und mit 0.5 Mol Ammoniak (25proz.) im Rohr 2.5 Stunden auf 90-100° erhitzt. Nach dem Abkühlen saugt man die Kristalle von N, N'-Di-cyanomethyl-melamin ab, wäscht mit kaltem Wasser und trocknet.

Fast farblose Kristalle. Fp = 282-284°C (Z).

Ausbeute 15.7 g, entsprechend 76.9% der Theorie.

$C_7H_8N_8$ (204.2)

Ber. C 41.17% H 3.95% N 54.88%

Gef. C 41.07% H 3.96% N 54.39%

^{x)} Hergestellt nach einer Vorschrift von Th. CURTIUS (10) aus Methylaminoacetonitril nach L.H. AMUNDSEN (1).

5. N, N', N''-Tri-cyanomethyl-melamin

Der Versuch, 1 Mol Melamin mit 3 Mol Formaldehyd und 3 Mol Cyanwasserstoff (aus Natriumcyanid und Schwefelsäure) entsprechend 1. und 2. umzusetzen, führt lediglich zu dem schwerlöslichen schwefelsauren Salz des Melamins:



Ber. C 18.64% H 4.69% N 43.50%

Gef. C 18.85% H 4.60% N 43.47%

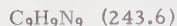
Auch N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin und Melamin-N, N', N''-trimethylsulfonat lassen sich im Sinne einer Transaminomethylierung mit Natriumcyanid nicht umsetzen.

Die Reaktion von 1 Mol Cyanurchlorid mit 6 Mol Aminoacetonitril oder mit 3 Mol Aminoacetonitril und 3 Mol Natriumbikarbonat in verschiedenen Lösungsmitteln (Phenol, 2-Äthoxyäthanol-1, Aceton, Dioxan) und bei verschiedenen Temperaturen (0 bis 100°) entsprechend V, 3 führt nur zum Austausch von 2 Chloratomen.

Zur Darstellung des N, N', N''-Tri-cyanomethyl-melamins werden 5.0 g 2-Chlor-4,6-dicyanomethylamino-1,3,5-triazin mit überschüssigem Aminoacetonitril ohne Lösungsmittelzusatz unter Rühren mehrere Stunden auf 40-50° erwärmt. Unter Auflösung und Braunfärbung kommt es zur Umsetzung. Beim Verdünnen der Reaktionslösung mit Wasser fällt das N, N', N''-Tri-cyanomethyl-melamin aus. Wegen der starken Zersetzung des überschüssigen Aminoacetonitrils kann das Produkt nur schwer rein erhalten werden.

Hellbraunes Pulver (aus Aceton). Fp = 216-228°C

Ausbeute 2.4 g, entsprechend 44.4% der Theorie



Ber. C 44.43% H 3.72% N 51.83%

Gef. C 46.70% H 4.05% N 49.12%

VI. Herstellung von 1,4,6,9-Tetraaza-tricyclo [4,4,1,1^{4,9}]dodecan (4)

Zur Konstitution siehe G. VOLPP (47)

0.5 Mol Formaldehydlösung (30proz.) werden nach Zusatz von 0.25 Mol Äthylendiamin 1 Stunde bei Zimmertemperatur gerührt und anschließend

im Vakuum nahezu vollständig eingedampft. Der Rückstand wird mit Äther ausgezogen und das nach Abdestillieren des Äthers erhaltene Produkt durch Vakuumsublimation gereinigt.

Farblose Kristalle. Fp = 195-200°C.

Ausbeute 18.7 g, entsprechend 91.8% der Theorie.

$C_8H_{16}N_4$ (168.2)

Ber. C 57.10% H 9.58% N 33.30%

Gef. C 56.98% H 9.47% N 33.48%

Gef. M.G. (kryoskopisch in Benzol) 164.3

VII. Herstellung von N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-dimethylamino-methylester (24)

Zu einer Lösung von 0.3 Mol N,N,N',N'-Tetramethyl-diaminomethan (IX, 1) in 30-50 ml Wasser läßt man bei 0-5° unter Rühren langsam 0.31 Mol Schwefelkohlenstoff zutropfen. Nach dem Stehen über Nacht wird abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet.

Farblose Kristalle. Fp = 36-40°C.

Ausbeute 41.0 g, entsprechend 76.7% der Theorie.

$C_6H_{14}N_2S_2$ (178.3)

Ber. C 40.41% H 7.85% N 15.71% S 35.96%

Gef. C 40.09% H 7.83% N 15.99% S 35.86%

VIII. Herstellung der Schiffischen Basen

1. 4-Hydroxybenzylidenmethylamin

0.25 Mol p-Hydroxybenzaldehyd werden in Äther gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 0.25 Mol einer 33proz. Methylaminlösung versetzt. Nach zwei Stunden wird im Wasserstrahlvakuum eingedampft.

Rötlichweiße Kristalle (aus Tetrahydrofuran). Fp = 160.5-164.0°C.

Ausbeute 18.2 g, entsprechend 53.8% der Theorie.

C_8H_9NO (135.1)

Ber. N 10.36%

Gef. N 10.26%

2. 4-Hydroxybenzyliden- β -hydroxyäthylamin

Darstellung wie VIII, 1.

Bräunlichweiße Kristalle (aus Dioxan). Fp = 171°C.

Ausbeute 30.0 g, entsprechend 72.6% der Theorie.

$C_9H_{11}NO_2$ (165.19)

Ber. N 8.48%

Gef. N 8.51%

3. 3,4-Dihydroxybenzylidenmethylamin

0.1 Mol Protokatechualdehyd wird in Äthanol gelöst und entsprechend VIII, 1 weiterverarbeitet. Zur Reinigung wird der Eindampfrückstand bei 0.1 mm/Hg und 150-160° sublimiert.

Gelbes Pulver. Fp = 170-180°C (Z).

Ausbeute 3.7 g, entsprechend 24.4% der Theorie.

$C_8H_9NO_2$ (151.1)

Ber. C 63.56% H 6.00% N 9.26%

Gef. C 63.63% H 5.89% N 9.37%

4. Benzylidenanthranilsäure (42)

Eine Lösung von 0.5 Mol Anthranilsäure in 500 ml heißem, wasserfreiem Benzol wird mit 0.5 Mol frisch destilliertem Benzaldehyd 30 Stunden erhitzt. Nach dem Abtrennen des Reaktionswassers kristallisiert die Benzylidenanthranilsäure beim Abkühlen der Lösung aus. Sie wird abgenutscht und aus Benzol umkristallisiert.

Farblose Nadeln. Fp = 116-124°C.

Ausbeute 103.0 g, entsprechend 91.4% der Theorie.

$C_{14}H_{11}NO_2$ (225.2)

Ber. N 6.22%

Gef. N 6.57%

IX. Herstellung verschiedener monofunktioneller Verbindungen

1. N, N, N', N'-Tetramethyl-diaminomethan (27)

1 Mol einer 30proz. wäßrigen Formaldehydlösung wird unter Rühren tropfenweise mit 2 Mol Dimethylaminlösung (40proz.) versetzt. Man mäßigt die heftig einsetzende Reaktion durch Kühlen im Eisbad. Nach dem Stehen über Nacht wird das Produkt durch Zusatz von Natriumhydroxyd abgeschieden und der Destillation unterworfen.

Farblose Flüssigkeit von stechendem Geruch. Sdp. = 82.5°C.

Ausbeute 75.5 g, entsprechend 74% der Theorie.

$C_5H_{14}N_2$ (102.1)

Ber. C 58.82% H 13.72% N 27.45%

Gef. C 58.65% H 13.82% N 27.42%

2. N, N-Dimethyl-pyrrolidiniumjodid (33)

Man erwärmt 0.33 Mol Pyrrolidin mit einem Überschuß Methyljodid in Methanol 6 Stunden auf dem Wasserbad unter Rückfluß. Dann werden Methanol und überschüssiges Methyljodid im Wasserstrahlvakuum abgezogen und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert.

Rotgelbe Kristalle.

Ausbeute 25.3 g, entsprechend 33.4% der Theorie.

$C_6H_{14}JN$ (227.0)

Ber. J 55.88%

Gef. J 56.01%

3. N-Äthoxymethyl-piperidin (9)

Zu einer Lösung von 1 Mol Piperidin in überschüssigem absolutem Alkohol gibt man vorsichtig 1 Mol Paraformaldehyd. Nach dem Abklingen der Reaktion wird 2 Stunden unter Erwärmen auf dem Wasserbad gerührt. Dann gibt man bis zur Sättigung wasserfreies Kaliumkarbonat hinzu und läßt über Nacht stehen. Nach dem Filtrieren wird der überschüssige Alkohol abdestilliert und der Rückstand der Vakuumdestillation unterworfen.

Farbloses Öl. Sdp.₁₅ = 57-62°C.

Ausbeute 58.0 g, entsprechend 40.5% der Theorie.

$C_8H_{17}NO$ (142.23)

Ber. N 9.78%

Gef. N 9.50%

4. α -Phenyl- α -(1-piperidino)-acetonitril (52)

1.01 Mol Natriumcyanid werden in 100 ml Wasser mit 1 Mol Piperidinhydrochlorid kurz verrührt und nach Zusatz von 1 Mol Benzaldehyd 10-12 Stunden geschüttelt. Das entstandene Nitril wird abgenutscht und aus Äthanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle. Fp = 61.5°C.

Ausbeute 174.1 g, entsprechend 86.5% der Theorie.

$C_{13}H_{16}N_2$ (200.2)

5. N,N-Diäthylaminomethyl-essigsäureester (37, 5)

Eine Mischung aus 1 Mol Diäthylamin und 1 Mol Methanol wird mit 1 Mol Paraformaldehyd versetzt und die heftig einsetzende Reaktion durch Kühlen gemäßigt. Nach ihrem Abklingen gibt man wasserfreies Kaliumkarbonat hinzu und läßt über Nacht stehen. Der entstandene Diäthylaminomethylmethyläther destilliert zwischen 114-120°.

Ausbeute 42.5 g, entsprechend 36.2% der Theorie.

0.33 Mol Diäthylaminomethylmethyläther werden mit 0.33 Mol Essigsäureanhydrid unter Feuchtigkeitsausschluß bei Zimmertemperatur umgesetzt und das Produkt der Destillation im Vakuum unterworfen.

Farblose Flüssigkeit. Sdp.₁₈ = 78-83°C.

Ausbeute 28.0 g, entsprechend 57.8% der Theorie.

$C_7H_{15}NO_2$ (145.2)

D. PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNG

Die biologische Prüfung der in Tabelle 1 (S. 4-7) aufgeführten Verbindungen erfolgte am Ehrlichschen Mäuseascitescarcinom.

Die Vorteile dieses Tumors liegen in seiner einfachen Impftechnik und seiner nahezu 100proz. Angangsrate (34, 51). Die Tumorzellen wachsen - vergleichbar einer Zellkultur in vitro - größtenteils frei in der Ascites-flüssigkeit, nur ein geringer Teil wächst infiltrierend in inneren Organen.

Um eine genaue pharmakologische Bewertung der Ergebnisse zu ermöglichen, wurden 3 klinisch bereits erprobte Präparate - nämlich die Stickstoff-lostderivate N-Methyl-N-bis-(β -chloräthyl)-amin (Dichloren[®] Ciba) und N,N-Bis-(β -chloräthyl)-N', O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Endoxan[®] Asta), sowie das Triazinderivat N,N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin^{x)} (im Handel unter dem Namen Cealysin[®] Köhler) - unter den gleichen Versuchsbedingungen mitgeprüft.

Die Testung der einzelnen Substanzen erfolgte in abgestuften Dosierungen.

I. Versuchstechnik

1. Bestimmung der Toxizität

Als Versuchstiere dienten gesunde, erbreine männliche Mäuse der NMRI-Linie, deren Körpergewicht zu Beginn der Versuche im allgemeinen bei 20-25 g lag. Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Tiere bei einer Temperatur von 23-24° gehalten. Als Diät diente Altromin R^{xx)} und Wasser ad libitum.

Die Bestimmung der mittleren letalen Dosis erfolgte bei allen Substanzen zeitlos bei einmaliger ip.Gabe als DL₅₀(1) und außerdem - bei den wirksamsten Stoffen - bei Verteilung der Gesamtdosis D auf 4 aufeinanderfolgende Tage als DL₅₀(4) (siehe Tabelle 2-7 S. 32-37). Dabei wurden die Tiere mindestens 21 Tage unter täglicher Gewichtskontrolle beobachtet und nach dem Spontanod seziert, um zufällige Todesursachen wie z.B. Verletzungen, Infektionen usw. auszuschließen.

x) Die Verbindung wurde nach (43) hergestellt. (Siehe S. 17).

xx) Altromin R, Alleinfutter für Mäuse der Fa. Altrogge/Lage

Die wasserlöslichen Substanzen wurden in einer solchen Konzentration gelöst, daß sich pro 20 g Maus Mengen von 0.5 ml (oder wenn nicht anders möglich von höchstens 1.0 ml) errechneten. Sämtliche Lösungen wurden unmittelbar vor der Applikation frisch bereitet, unter Zusatz von Natriumchlorid auf Isotonie und, falls erforderlich, mit Salzsäure oder Natriumbikarbonat auf pH 7 eingestellt und sterilfiltriert. Unlösliche Substanzen wurden unter sterilen Bedingungen in 0.9proz. Kochsalzlösung suspendiert oder, wenn nicht anders möglich, in sterilisiertem Erdnußöl gelöst bzw. suspendiert. Dabei wurde so vorgegangen, daß jedes Tier nicht mehr als 0.1 bis höchstens 0.2 ml Öl pro Dosi erhielt.

In Tabelle 2 (S. 32) sind die mittleren letalen Dosen in mg/kg sowie die Applikationsform der Verbindungen zusammengestellt.

Berechnet wurde die DL_{50} jeweils in üblicher Weise nach G. KÄRBER (29).

2. Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Zur Verimpfung wurde Tumorcites von mehreren Tieren mit 7-10 Tage altem Ehrlichschen Mäuseascitescarcinom steril entnommen und gemischt^{x)}. Von dieser unverdünnten Ascitesflüssigkeit wurden 20 bis 25 g schweren Versuchstieren jeweils 0.2 (bzw. 0.3) ml intraperitoneal injiziert. Die Behandlung begann 2 Stunden nach der Transplantation. Dabei erhielten die Tiere in mehreren Dosierungsgruppen von jeweils 5-10 Mäusen im allgemeinen an 5-10 aufeinanderfolgenden Tagen je eine ip. Injektion der zu prüfenden Substanzlösung bzw. Suspension. Erwies sich eine Dosierung als zu hoch, wurde die Therapie abgebrochen oder die tägliche Dosis erniedrigt. Die Lösungen bzw. Suspensionen wurden wie oben beschrieben unmittelbar vor jeder Applikation frisch bereitet. Die Kontrolltiere erhielten jeweils die entsprechende Menge des Lösungsmittels (0.5 ml physiologische Kochsalzlösung oder 0.1 ml Öl). Wägung der Tiere erfolgte täglich zur gleichen Zeit auf 0.1 g genau. Nach dem Spontanod wurden die Mäuse seziiert, um sicher festzustellen, ob der Tumor die Todesursache war. Die Tiere, die an Verletzungen - entstanden durch die Injektionen - zugrunde gegangen waren, wurden nicht mit ausgewertet.

x) Die Notwendigkeit, den Ascites zu mischen, ergab sich aus der beschränkten Menge der aus einem Tier gewinnbaren Ascitesflüssigkeit.

Als Kriterium der Wirksamkeit einer Substanz galt die Überlebenszeit im Vergleich zu den Kontrollen ^{x)}. Die Tiere, die nach einer Beobachtungszeit von 90 Tagen - von der Tumortransplantation an gerechnet ^{xx)} - keine Rezidive und Metastasen erkennen ließen, wurden als endgültig geheilt betrachtet.

^{x)} Die Ergebnisse wurden entsprechend der Darstellung von K.FREUDENBERG (18) statistisch ausgewertet (siehe Tabelle 9, S. 42-43).

^{xx)} Der Tag der Transplantation wurde als Tag 0 bezeichnet.

Tabelle 2: Toxizität der in Tabelle 1 (S.4-7) aufgeführten
 α -Aminoalkylantien bei ip.Gabe an der Maus
 wL = wäßrige Lösung
 wS = wäßrige Suspension
 öL = ölige Lösung
 öS = ölige Suspension

Nr.	DL ₅₀ (1) mg/kg	DL ₅₀ (4) mg/kg	Zubereitungs- form.
1	2470 ^{x)}	-	wS
2	1150 ^{xx)}	-	wL
3	>12000	-	öS
4	9660	-	wL
5	890	-	wS
6	>12000	-	wS
7	2100	-	öL
8	4000	-	wL
9	3030	-	wS
10	50	-	wL
11	1050	3600	wL
12	3300	-	wL
13	1240	3500	wL
14	273	719	wL
15	410	1090	wL
16	220	741	wL
17	62	-	wL
18	190	-	öL
19	125	-	wL
20	500	-	öL
21	750	-	wL
22	500	-	wL
23	500	-	wL
24	1500	-	öS
Endoxan	180 ^{xxx)}	-	wL
Dichloren	1.6 ^{xxx)}	-	wL

x) Nach O.EICHLER und Mitarbeiter (14) 800 mg/kg
 xx) Nach O.EICHLER und Mitarbeiter (17) 1050 mg/kg
 xxx) Bestimmt an der Ratte (2)

Tabelle 3: Toxizitätsprüfung von N,N-Dimethyl-N,N-di-
äthylthiomethyl-äthylendiamindihydrochlorid
(Substanz Nr. 11, siehe Tabelle 1, S. 4-7)

Dosis mg/kg			Effekt	
Einzel- dosis	Anzahl der Injektionen	Gesamt- dosis	tot / gesamt	Mortalität in %
245	1	245	0 / 2	-
510	1	510	0 / 2	-
800	1	800	0 / 2	-
815	1	815	0 / 2	-
850	1	850	0 / 6	-
900	1	900	0 / 6	-
950	1	950	5 / 12	41.7
1000	1	1000	0 / 4	-
1050	1	1050	4 / 4	100.0
1085	1	1085	1 / 4	25.0
1170	1	1170	4 / 4	100.0
1700	1	1700	4 / 4	100.0
600	4	2400	0 / 4	-
700	4	2800	0 / 5	-
750	4	3000	0 / 5	-
800	4	3200	1 / 6	16.6
850	4	3400	1 / 6	16.6
900	4	3600	3 / 6	50.0
950	4	3800	4 / 6	66.6
1000	4	4000	6 / 6	100.0

DL₅₀(1) = 1050 mg/kg

DL₅₀(4) = 3600 mg/kg

Tabelle 4: Toxizitätsprüfung von N,N'-Di-äthylthiomethylimidazolidindihydrochlorid (Substanz Nr. 13, siehe Tabelle 1, S. 4-7)

Dosis mg/kg			Effekt	
Einzel-dosis	Anzahl der Injektionen	Gesamt-dosis	tot / gesamt	Mortalität in %
275	1	275	0 / 2	-
550	1	550	0 / 2	-
800	1	800	0 / 2	-
850	1	850	0 / 2	-
900	1	900	0 / 2	-
950	1	950	0 / 2	-
1050	1	1050	1 / 7	14.0
1100	1	1100	0 / 7	-
1200	1	1200	0 / 7	-
1250	1	1250	3 / 7	42.8
1300	1	1300	7 / 7	100.0
1400	1	1400	7 / 7	100.0
650	4	2600	0 / 2	-
700	4	2800	0 / 2	-
750	4	3000	0 / 2	-
800	4	3200	0 / 4	-
850	4	3400	0 / 4	-
900	4	3600	4 / 4	100.0
950	4	3800	4 / 4	100.0
1000	4	4000	4 / 4	100.0

DL₅₀(1) = 1240 mg/kg

DL₅₀(4) = 3500 mg/kg

Tabelle 5: Toxizitätsprüfung von 1.4.6.9-Tetraaza-tricyclo[4.4.1.1.^{4,9}]dodecan (Substanz Nr.14, siehe Tabelle 1, S. 4-7)

Dosis mg/kg			Effekt	
Einzel-dosis	Anzahl der Injektionen	Gesamt-dosis	tot / gesamt	Mortalität in %
169	1	169	0 / 4	-
198	1	198	0 / 4	-
275	1	275	2 / 4	50.0
300	1	300	4 / 7	57.2
325	1	325	4 / 4	100.0
350	1	350	4 / 4	100.0
400	1	400	2 / 2	100.0
880	1	880	2 / 2	100.0
1706	1	1706	2 / 2	100.0
150	4	600	0 / 4	-
180	4	720	3 / 6	50.0
200	4	800	7 / 8	87.5
225	4	900	6 / 6	100.0
250	4	1000	4 / 4	100.0

DL₅₀(1) = 273 mg/kg

DL₅₀(4) = 719 mg/kg

Tabelle 6: Toxizitätsprüfung von N,N-Dimethyl-dithiocarb-
amidsäure-dimethylaminomethylester
(Substanz Nr.15, siehe Tabelle 1, S. 4-7)

Dosis mg/kg			Effekt	
Einzel- dosis	Anzahl der Injektionen	Gesamt- dosis	tot / gesamt	Mortalität in %
300	1	300	0 / 4	-
350	1	350	2 / 8	25.0
375	1	375	1 / 8	12.5
400	1	400	0 / 8	-
413	1	413	4 / 8	50.0
425	1	425	4 / 8	50.0
450	1	450	4 / 4	100.0
470	1	470	4 / 4	100.0
775	1	775	2 / 2	100.0
220	4	880	0 / 4	-
250	4	1000	4 / 6	66.0
265	4	1060	0 / 4	-
272.5	4	1090	4 / 4	100.0
275	4	1100	8 / 8	100.0
300	4	1200	2 / 4	50.0
350	4	1400	4 / 4	100.0
425	4	1700	2 / 2	100.0

DL₅₀(1) = 410 mg/kg

DL₅₀(4) = 1090 mg/kg

Tabelle 7: Toxizitätsprüfung von N, N, N', N'-Tetramethyldiaminomethan (Substanz Nr.16, siehe Tabelle 1, S. 4-7)

Dosis mg/kg			Effekt	
Einzel-dosis	Anzahl der Injektionen	Gesamt-dosis	tot / gesamt	Mortalität in %
125	1	125	0 / 2	-
132	1	132	0 / 2	-
189	1	189	0 / 4	-
202	1	202	2 / 5	40.0
240	1	240	4 / 4	100.0
270	1	270	4 / 5	80.0
337	1	337	4 / 4	100.0
344	1	344	4 / 4	100.0
135	4	540	0 / 4	-
152	4	608	0 / 4	-
168	4	672	1 / 4	25.0
185	4	740	1 / 4	25.0
202.5	4	810	4 / 4	100.0
236	4	944	4 / 4	100.0

DL₅₀(1) = 220 mg/kg

DL₅₀(4) = 741 mg/kg

II. Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Toxizitätsbestimmungen und der pharmakologischen Prüfung sind in den Tabellen 2 bis 9 zusammengefaßt.

Auffällig ist die geringe Toxizität der meisten Verbindungen (siehe dazu S. 16), sowie ihre sehr geringen kumulativ-toxischen Eigenschaften. Im Gegensatz zu den meisten in der Tumorchemotherapie verwendeten Stickstofflost- und Äthyleniminderivaten nimmt die Toxizität bei Verteilung der Gesamtdosis auf mehrere Tage sehr stark ab. So nimmt die Giftigkeit der Verbindungen Nr. 11, 13, 14, 15 und 16 (Tabelle 2, S. 32) bei Verteilung der Gesamtdosis auf 4 Tage annähernd um das 3 bis $3\frac{1}{2}$ -fache ab. Aus dem Abstand der $DL_{50}(1)$ und der $DL_{50}(4)$ wurde berechnet, daß die Stoffe innerhalb von 24 Stunden bereits zu 65-90% entgiftet werden; der kumulierende Rest sinkt nach 24 Stunden auf 10-35% der applizierten Dosis.

Die Abbildungen 1 bis 46 auf den Seiten 45 bis 88 zeigen die Gewichtskurven der Ascitestiere. Man erhält daraus einen gewissen Eindruck von der Geschwindigkeit des Tumorstwachstums. Da jedoch das Gewicht der Tiere nicht nur von der Menge an Ascitesflüssigkeit und festem Tumorgewebe, sondern auch von dem durch die Testsubstanzen und die stoffwechselschädigende Wirkung des Tumors selbst beeinflussten Körpergewicht abhängt, genügt die Gewichtskurve allein nicht zur Beurteilung des Tumorstwachstums. Das beste Kriterium für die Bewertung der Wirksamkeit eines Produktes ist die Überlebenszeit bzw. die endgültige Heilung der Versuchstiere. Die Beurteilung des unterschiedlichen Tumorgewichtes nach relativ kurzer Versuchsdauer (Töten der Tiere 10-14 Tage nach Versuchsbeginn und Bestimmung des Tumorgewichtes) ist zwar weniger zeitraubend, dafür aber ungenügend und oft irreführend, da die unter diesen Versuchsbedingungen entdeckte Hemmwirkung zeitlich oft nur recht begrenzt ist. Beobachtet man nämlich die Versuchstiere über einen längeren Zeitraum, so sieht man oft, daß nach wenigen Tagen die Tumoren wieder zu wachsen beginnen - zumeist mit besonders großer Intensität -, so daß die behandelten Tiere nur wenig später als die Kontrollen an der Geschwulst eingehen (6).

Wie aus den Tabellen 8 (S. 40-41) und 9 (S. 42-43) ersichtlich, zeigen die meisten der geprüften Aminomethylierungsmittel am Ehrlichschen Mäuse-

ascitestumor eine Lebensverlängerung gegenüber den Kontrollen; die Verbindungen 11, 13, 14, 15 und 16 erreichen sogar eine Heilung von 50% oder mehr. Damit übertreffen sie in der tumorhemmenden Wirkung an diesem Carcinom die Präparate N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin ^{x)} (Cealysin® Köhler) und N, N-Bis-(β -chloräthyl)-N', O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Endoxan® Asta) und sind etwa gleich stark wirksam wie die Verbindung N-Methyl-N-bis-(β -chloräthyl)-amin (Dichloren® Ciba).

^{x)} Die Verbindung war im Tierversuch nahezu wirkungslos (siehe auch S.2).

Tabelle 8: Prüfung der α -Aminoalkylantien am Ehrlichscher Mäuseascitestumor

Substanz Nr.	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer ¹ in Tagen		Lebensverlängerung ¹ in %	Nach 90 Tagen Überlebende/von	Geheilt %
	in mg/kg	verteilt auf Tage	Ver- such	Kon- trolle	Versuch	Kontrolle			
1	1250	5	10	9	35.2	31.0	13.5	1/10	10
	1750	2	6	10	4.0	14.5	-	0/6	-
2	1750	5	9	9	22.3	24.6	-	0/9	-
	750	5	6	10	16.8	14.5	15.8	0/6	-
3	4500	3	9	9	29.8	21.1	41.2	0/9	-
	5000	5	10	9	21.6	16.6	30.1	1/10	10
	15000	3	6	10	11.1	14.5	-	0/6	-
4	12500	5	10	9	33.4	24.6	35.7	1/10	10
	16250	5	7	10	23.7	14.9	59.0	0/7	-
5	137.5	5	6	10	17.5	14.9	17.4	0/6	-
	275	3	9	9	15.6	24.6	-	0/9	-
6	1350	5	7	10	14.5	14.9	-	0/7	-
	4000	3	8	9	10.4	24.6	-	0/8	-
7	2295	5	9	9	29.55	21.1	40.0	0/9	-
	3096	6	10	9	19.7	16.6	18.6	0/10	-
8	4000	4	6	10	27.6	14.5	90.3	1/6	16.6
	15000	6	8	9	38.6	21.1	82.9	1/8	12.5
	15000	6	5	9	42.4	24.6	72.3	1/5	20.0
	15000	6	9	10	20.77	14.9	39.6	0/9	-
9	3370	5	5	10	12.6	14.5	-	0/5	-
	4750	4	1	9	24.0	24.6	-	0/1	-
	5250	5	8	9	26.4	21.1	25.1	1/8	12.5
	5750	5	9	10	30.9	14.9	107.3	1/9	11.1
10	70	5	6	10	19.1	14.5	31.7	0/6	-
	120	5	5	9	36.4	21.1	72.5	1/5	20.0
	125	5	8	9	23.5	21.1	11.3	0/8	-
	125	5	9	10	34.1	14.9	129.0	2/9	22.2
11	1050	7	10	10	28.6	14.9	87.3	0/10	-
	1375	6	6	10	22.6	14.5	55.1	0/6	-
	1500	10	9	9	57.0	21.1	170.1	1/9	11.1
	2300	10	10	9	54.2	21.1	156.8	2/10	20.0
	3400	10	10	10	76.1	14.9	410.7	7 ² /10	50.0
12	4000	4	6	10	14.1	14.5	-	0/6	-
	10500	5	10	9	49.4	21.1	134.1	3/10	30.0
	10500	5	9	10	27.0	14.9	81.2	0/9	-
13	1000	5	12	10	15.6	14.5	7.6	0/12	-
	1500	5	8	9	48.5	21.1	129.8	1/8	12.5
	1600	6	8	9	52.6	24.6	113.4	2/8	25.0
	2500	10	9	10	75.4	14.9	406.0	5/9	55.5
14	575	6	8	9	72.2	24.6	193.5	4/8	50.0
	950	10	8	10	80.9	14.9	443.0	6 ³ /8	62.5
15	1050	10	10	10	77.4	14.9	419.0	5/10	50.0
16	437.5	6	9	9	61.1	24.6	148.3	3/9	33.3
	1046	10	8	10	81.7	14.9	448.0	6/8	75.0
17	125*	5	5	5	7.8	12.2	-	0/5	-
	100*	4	5	5	12.0	10.8	11.1	0/5	-

Tabelle 8: Fortsetzung

Sub- stanz Nr.	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebens- dauer ¹ in Tagen		Lebensver- längerung ¹ in %	Nach 90 Tagen Überlebende/von	Geheilt %
	in mg/kg	verteilt auf Tage	Ver- such	Kon- trolle	in Tagen				
					Versuch	Kontrolle			
18	500*	5	5	5	8.8	12.2	-	0/5	-
	200*	2	5	5	9.2	10.8	-	0/5	-
	150*	4	5	10	18.0	24.7	-	0/5	-
19	125*	5	5	5	10.0	12.2	-	0/5	-
	100*	4	5	5	10.4	10.8	-	0/5	-
20	1250*	5	5	5	9.4	10.6	-	0/5	-
	500*	2	5	5	9.0	10.8	-	0/5	-
21	1250*	5	5	5	11.2	12.2	-	0/5	-
	1000*	4	5	5	10.2	10.8	-	0/5	-
22	1250*	5	5	5	10.2	10.6	-	0/5	-
	1000*	4	5	5	11.2	10.8	-	0/5	-
23	1250*	5	5	5	10.0	10.6	-	0/5	-
	1000*	4	5	5	10.8	10.8	-	0/5	-
24	2000*	2	5	5	9.2	10.8	-	0/5	-
	1000	4	4	10	13.2	24.7	-	0/4	-
En- doxan	90	6	10	9	17.3	17.6	-	0/10	-
	160	2	6	10	43.6	14.5	200.0	2 ⁴ /6	-
Di- chlo- ren	1.2	4	6	10	78.3	14.5	448.2	4 ⁵ /6	50.0

¹ Als Lebensdauer der geheilten Tiere werden 90 Tage zugrundegelegt.
Berechnung der Lebensverlängerung nach der Formel $[(T-C)/C] \cdot 100\%$

T = durchschnittliche Lebensdauer der Testgruppe in Tagen

C = durchschnittliche Lebensdauer der Kontrollgruppe in Tagen

² davon 2 Mäuse mit Tumor

³ davon 1 Maus mit Tumor

⁴ die 2 letzten Mäuse kamen am 105. und 108. Tag ad exitum

⁵ davon 1 Maus mit Tumor

Bei den mit * bezeichneten Dosen erhalten die Tiere 0.3 ml,
bei allen anderen Dosen 0.2 ml Ascitesflüssigkeit ip.

Tabelle 9: Überlebenszeit in Tagen. Statistische Auswertung ^{x)}

Substanz Nr.	Gesamtdosis mg/kg	Versuch $\bar{x}$ $\pm$ s_x		Kontrolle $\bar{y}$ $\pm$ s_y		Δ	$\frac{\Delta}{s_\Delta}$	Z
1	1250 1750	35.2 4.0	21.19	31.0 14.5	19.36	4.2 -	0.44	3.52
2	1750 750	22.3 16.8	1.06	24.6 14.5	1.20	- 2.3	3.9	3.62
3	4500 5000 15000	29.8 21.6 11.1	12.20 22.90	21.1 16.6 14.5	15.35 7.75	8.7 5.0 -	1.3 0.65	3.50 3.52
4	12500 16250	33.4 23.7	22.61 12.93	24.6 14.9	7.07 3.85	8.8 5.8	1.1 1.76	3.52 3.58
5	137.5 275	17.5 15.6	5.46	14.9 24.6	3.85	2.6 -	1.0	3.62
6	1350 4000	14.5 10.4		14.9 24.6		- -		
7	2295 3096	29.55 19.7	20.06 11.85	21.1 16.6	15.35 7.75	8.45 3.1	1.0 0.7	3.55 3.52
8	4000 15000 15000 15000	27.6 38.6 42.4 20.77	27.90 25.60 25.78 8.43	14.5 21.1 24.6 14.9	1.20 15.35 7.07 3.85	13.1 17.5 17.8 5.9	0.1 1.7 1.5 1.9	3.62 3.58 3.71 3.52
9	3370 4750 5250 5750	12.6 24.0 26.4 30.9		14.5 24.6 21.1 14.9		- - 5.3 16.0		
10	70 120 125 125	19.1 36.4 23.5 34.1	10.30 28.00 7.50 30.68	14.5 21.1 21.1 14.9	1.20 15.35 15.35 3.85	4.6 15.3 2.4 19.2	1.0 1.1 0.4 1.8	3.62 3.71 3.58 3.52
11	1050 1375 1500 2300 3400	28.6 22.6 57.0 54.2 76.1	10.28 11.61 16.92 19.78 21.97	14.9 14.5 21.1 21.1 14.9	3.85 1.20 15.35 15.35 3.85	13.7 8.1 35.9 33.1 61.2	3.9 1.7 4.7 4.1 8.6	3.50 3.62 3.55 3.52 3.50
12	4000 10500 10500	14.1 49.4 27.0		14.5 21.1 14.9		- 28.3 12.1		
13	1000 1500 1600 2500	15.6 48.5 52.6 75.4	2.53 21.09 24.41 18.48	14.5 21.1 24.6 14.9	1.20 15.35 7.07 3.85	1.1 27.4 28.0 60.5	1.3 3.03 3.11 9.6	3.45 3.58 3.58 3.52
14	575 950	72.2 80.9	23.53 19.11	24.6 14.9	7.07 3.85	47.6 66.0	5.5 9.6	3.58 3.55

Tabelle 9: Fortsetzung

Substanz Nr.	Gesamtdosis mg/kg	Versuch		Kontrolle		Δ	$\frac{\Delta}{s_{\Delta}}$	Z
		$\bar{x}$	$\pm s_x$	$\bar{y}$	$\pm s_y$			
15	1050	77.4	19.21	14.9	3.85	62.5	10.1	3.50
16	437.5	61.1	29.54	24.6	7.07	36.5	3.6	3.55
	1046	81.7	17.44	14.9	3.85	66.8	10.6	3.55
17	125	7.8		12.2		-		
	100	12.0	1.49	10.8	1.32	1.2	1.3	4.0
18	500	8.8		12.2		-		
	200	9.2		10.8		-		
	150	18.0		24.7		-		
19	125	10.0		12.2		-		
	100	10.4		10.8		-		
20	1250	9.4		10.6		-		
	500	9.0		10.8		-		
21	1250	11.2		12.2		-		
	1000	10.2		10.8		-		
22	1250	10.2		10.6		-		
	1000	11.2	0.74	10.8	1.32	0.4	0.6	4.0
23	1250	10.0		10.6		-		
	1000	10.8		10.8		-		
24	2000	9.2		10.8		-		
	1000	13.2		24.7		-		
Endoxan	90	17.3		17.6		-		
	160	43.6	33.15	14.5	1.20	29.1	2.1	3.62
Di- chloren	1.2	78.3	7.83	14.5	1.20	63.8	19.8	3.62

- x) Entsprechend der Darstellung von K. FREUDENBERG (18) wurden der Durchschnitt und die Streuung berechnet. Zur Beurteilung der Signifikanz wurde der Quotient

$$\frac{\Delta}{s_{\Delta}} = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{s_x^2}{n_x} + \frac{s_y^2}{n_y}}}$$

benutzt. In Übereinstimmung mit O. EICHLER und Mitarbeiter (15) wurde das aus der Studentischen t-Funktion abgeleitete Kriterium der Zahl $Z = 3 + 10/(n_1 + n_2)$ in der Tabelle wiedergegeben. Bei strengen Forderungen an die Signifikanz muß der Quotient $\frac{\Delta}{s_{\Delta}}$ diese Zahl Z überschreiten.

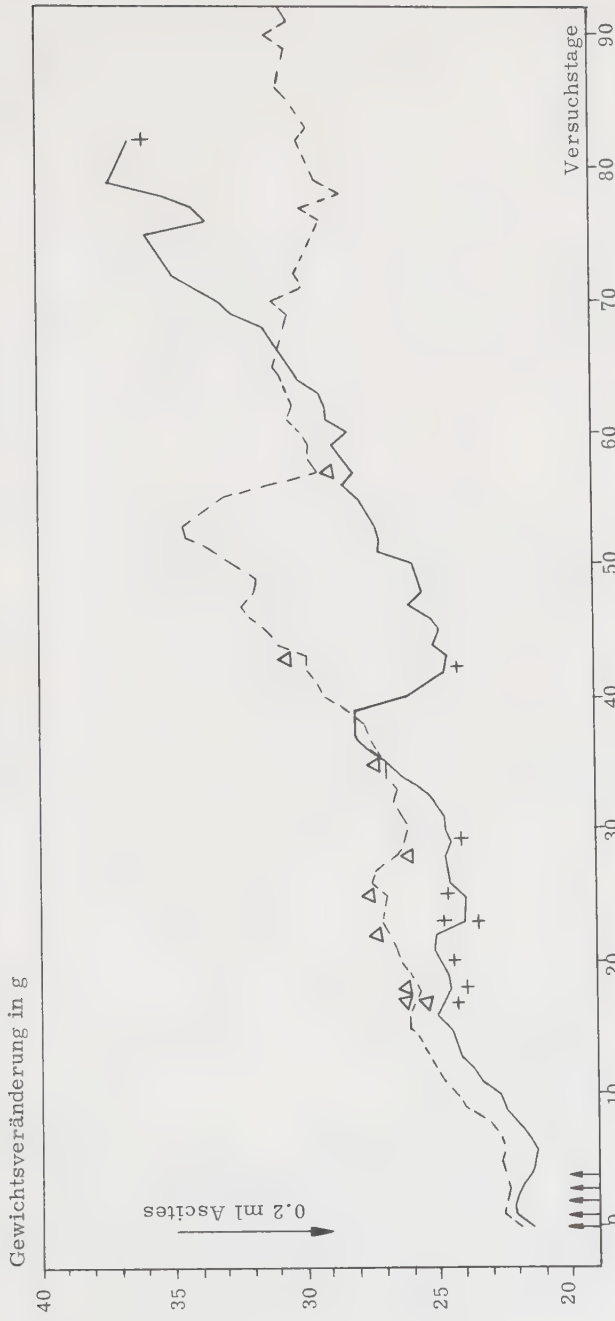


Abbildung 1 N, N', N''-Tri-hydroxymethyl-melamin (1). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor.

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	31.0	-	+
- - - 5x250 mg/kg	10	35.2	10 %	Δ

Gewichtsveränderung in g

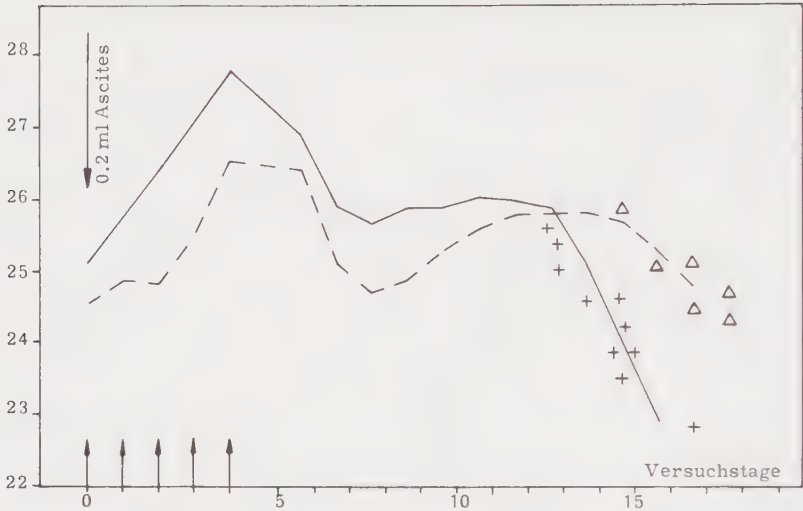


Abbildung 2 N, N, N', N', N'', N''-Hexa-methoxymethyl-melamin (2).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor.

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14,5	-	+
- - - 5x150 mg/kg	6	16,8	-	Δ

Gewichtsveränderung in g

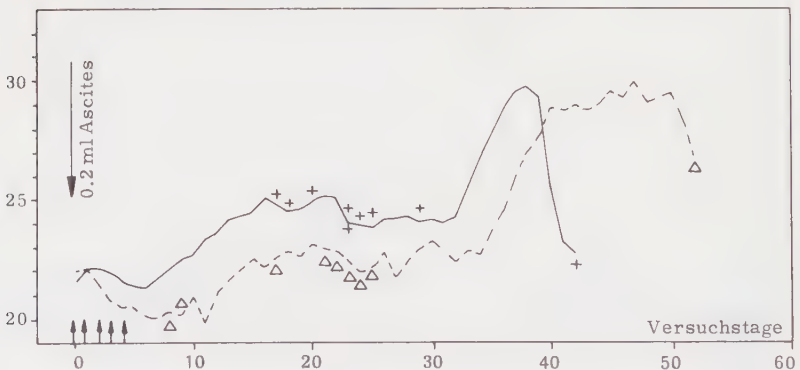


Abbildung 3 N, N, N', N', N'', N''-Hexa-methoxymethyl-melamin (2).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	24,6	-	+
- - - 1750 mg/kg	9	22,3	-	Δ

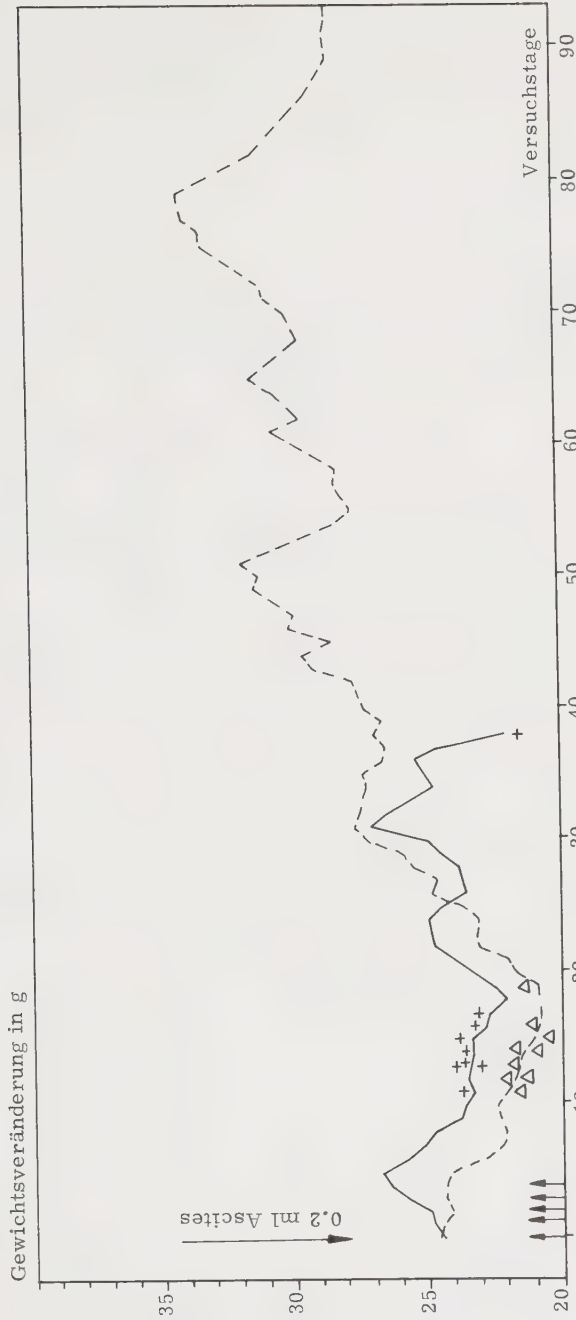


Abbildung 4 N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin (3). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	16.6	-	+
- - - 5x1000 mg/kg	10	21.6	10 %	4

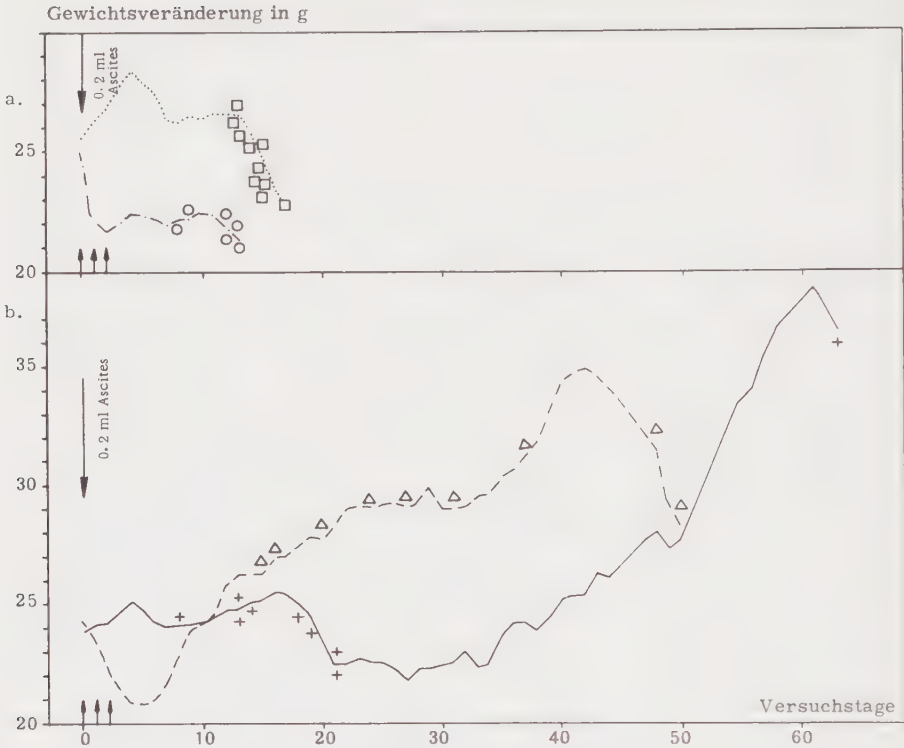


Abbildung 5 N, N, N', N', N'', N''-Hexa-äthylthiomethyl-melamin (3).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

	Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
a.	----- 15000 mg/kg	6	11.1	-	○
	 Kontrolle dazu	10	14.5	-	□
b.	----- 4500 mg/kg	9	29.8	-	△
	———— Kontrolle dazu	9	21.1	-	+

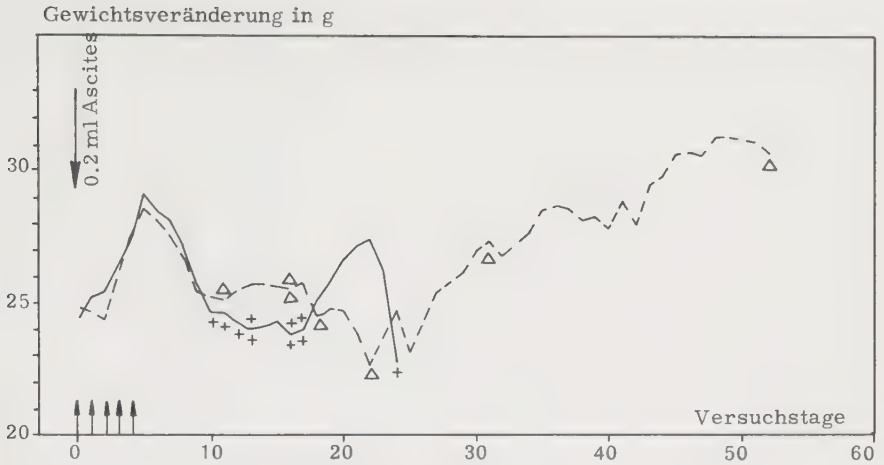


Abbildung 6 Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonat (4).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.9	-	+
- - - 16250 mg/kg	7	23.7	-	Δ

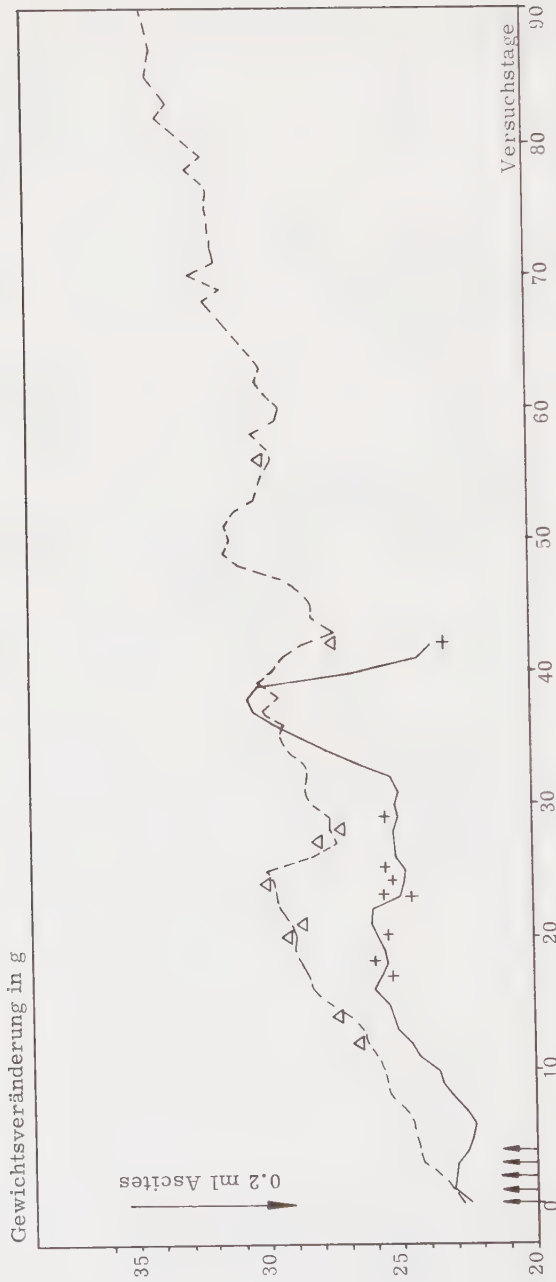


Abbildung 7 Melamin-N, N', N''-tri-methylsulfonat (4). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

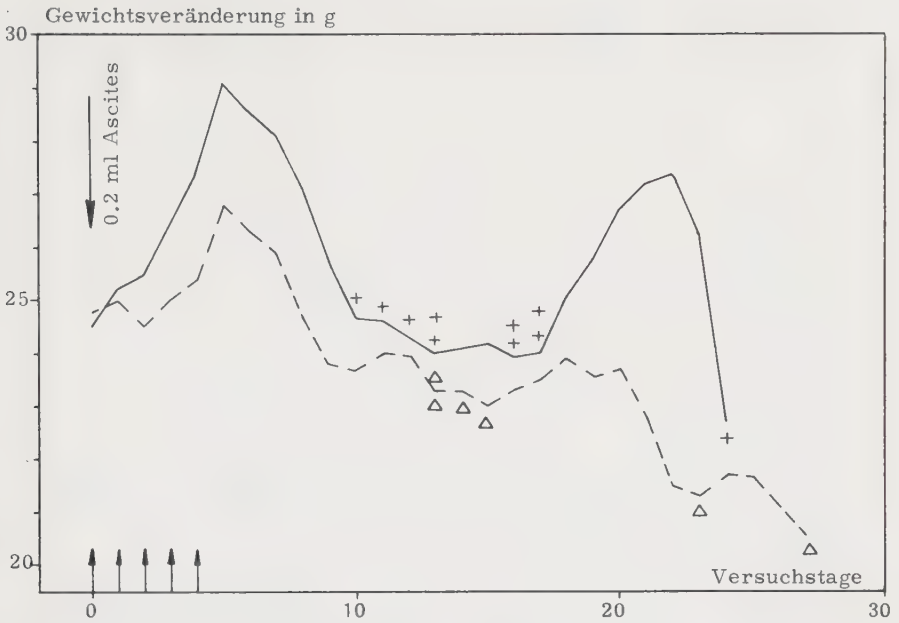


Abbildung 8 N, N'-Di-cyanomethyl-melamin (5). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.9	-	+
- - - 137.5 mg/kg	6	17.5	-	Δ

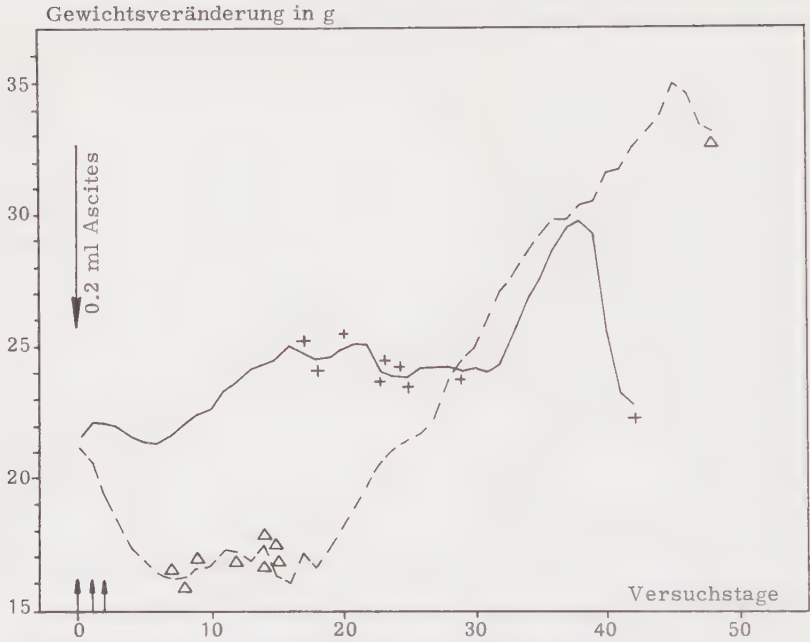


Abbildung 9 N, N'-Di-cyanomethyl-melamin (5). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	24,6	-	+
- - - 275 mg/kg	9	15,6	-	Δ

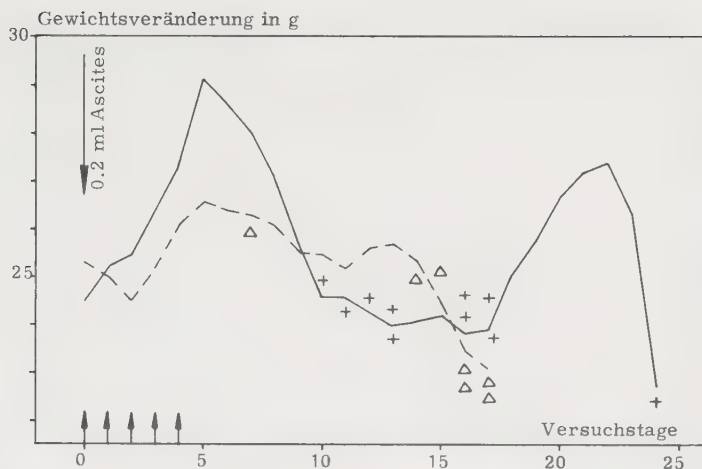


Abbildung 10 2-Chlor-4, 6-di-cyanomethylamino-1, 3, 5-triazin (6)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.9	-	+
- - - 1350 mg/kg	7	14.5	-	Δ

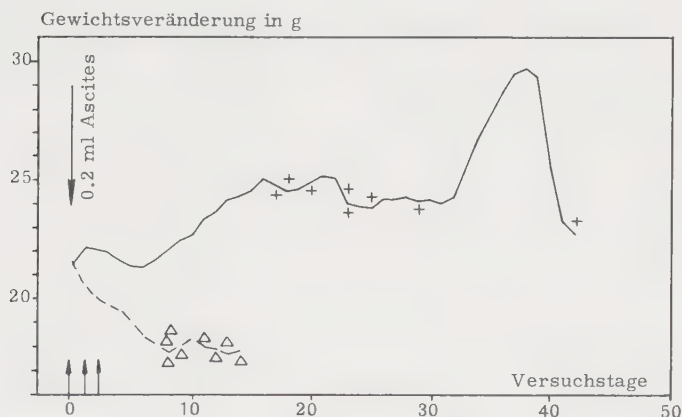


Abbildung 11 2-Chlor-4, 6-di-cyanomethylamino-1, 3, 5-triazin (6)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	24.6	-	+
- - - 4000 mg/kg	8	10.4	-	Δ

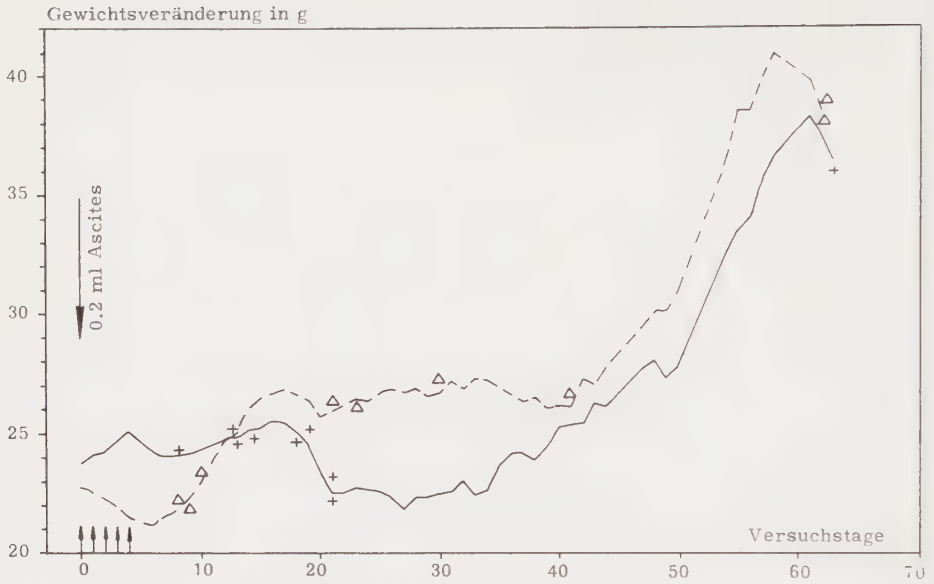


Abbildung 12 N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin (7).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	21.1	-	+
- - - 2295 mg/kg	9	29.55	-	Δ

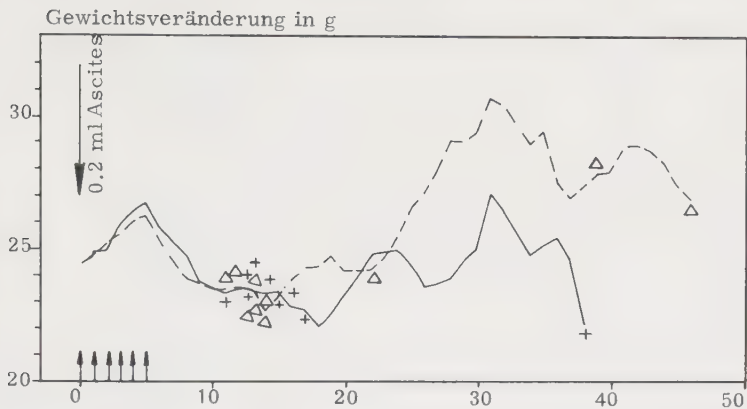
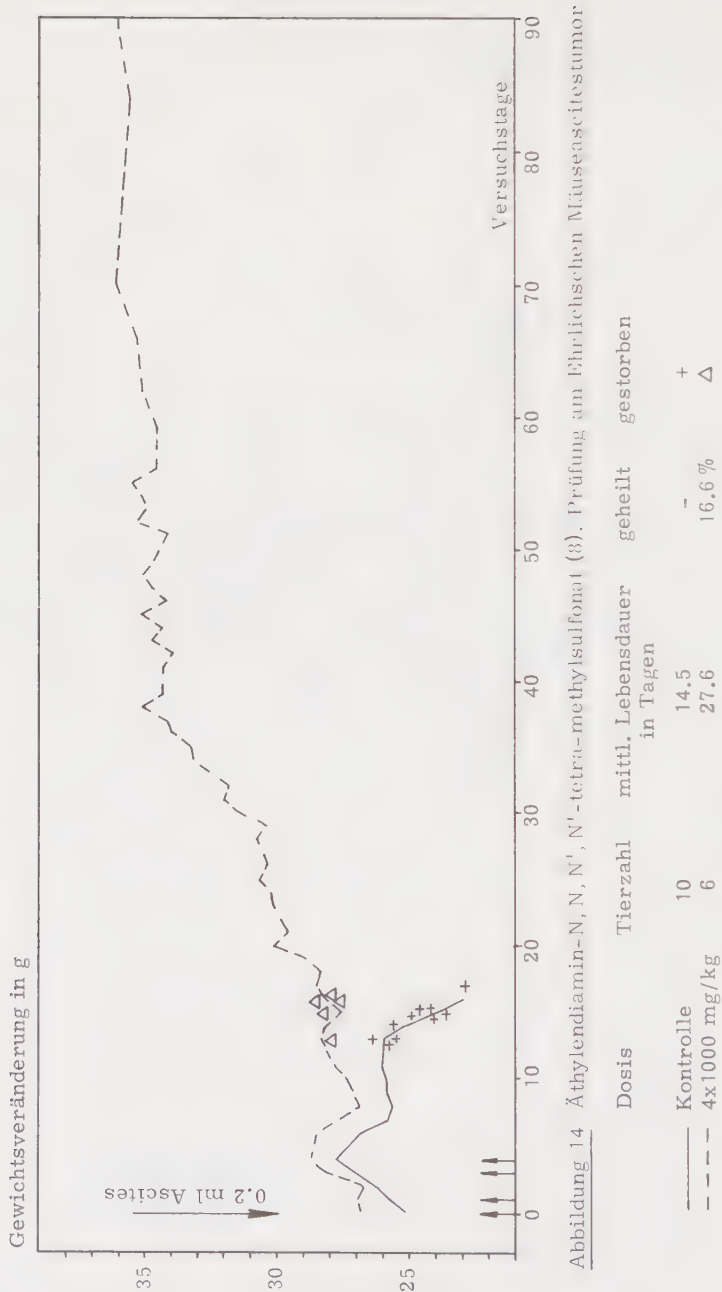


Abbildung 13 N, N, N', N'-Tetra-äthylthiomethyl-äthylendiamin (7).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	16.6	-	+
- - - 6x516 mg/kg	10	19.7	-	Δ



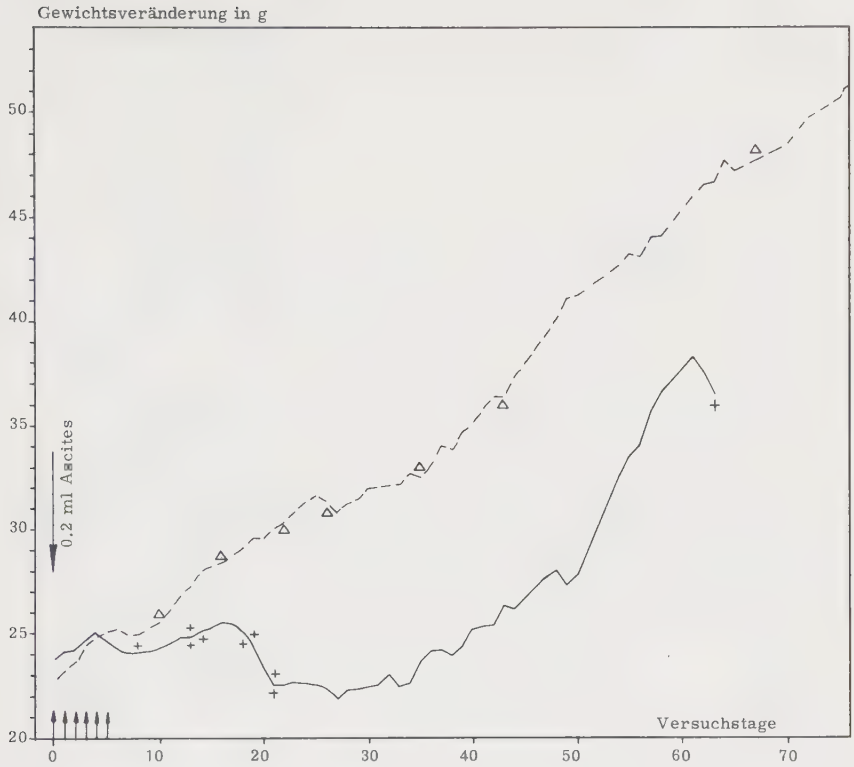


Abbildung 15 Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonat (8).
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	9	21.1	-	+
- - - 6x2500 mg/kg	8	38.6	12.5%	Δ

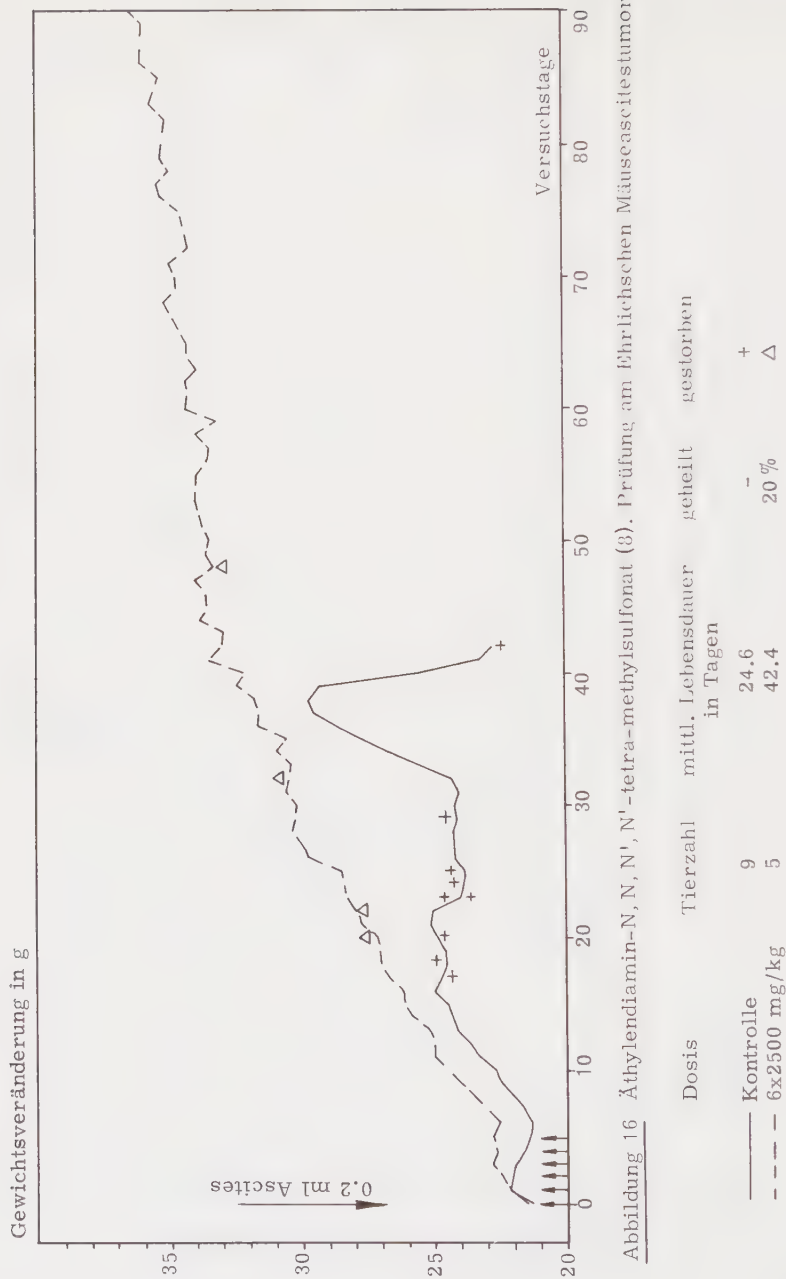


Abbildung 16 Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonat (3). Prüfung am fährlichen Mäuseascites-tumor

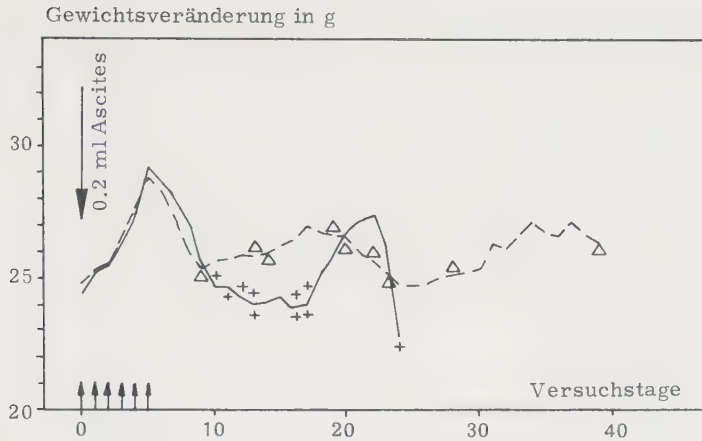


Abbildung 17 Äthylendiamin-N, N, N', N'-tetra-methylsulfonat (8)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14,9	-	+
- - - 6x2500 mg/kg	9	20,8	-	Δ

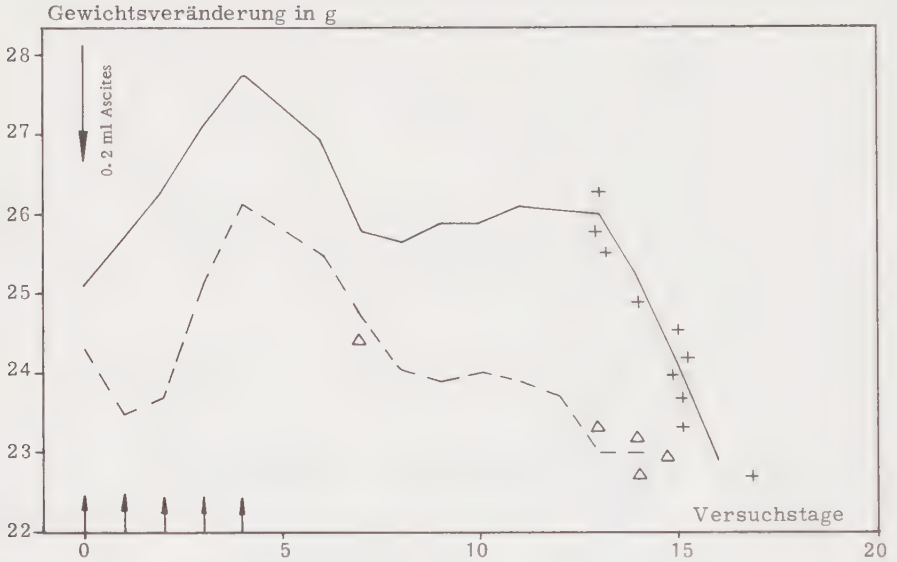


Abbildung 18 N, N, N', N'-Tetra-cyanomethyl-äthylendiamin (9)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.5	-	+
- - - 3370 mg/kg	5	12.6	-	Δ

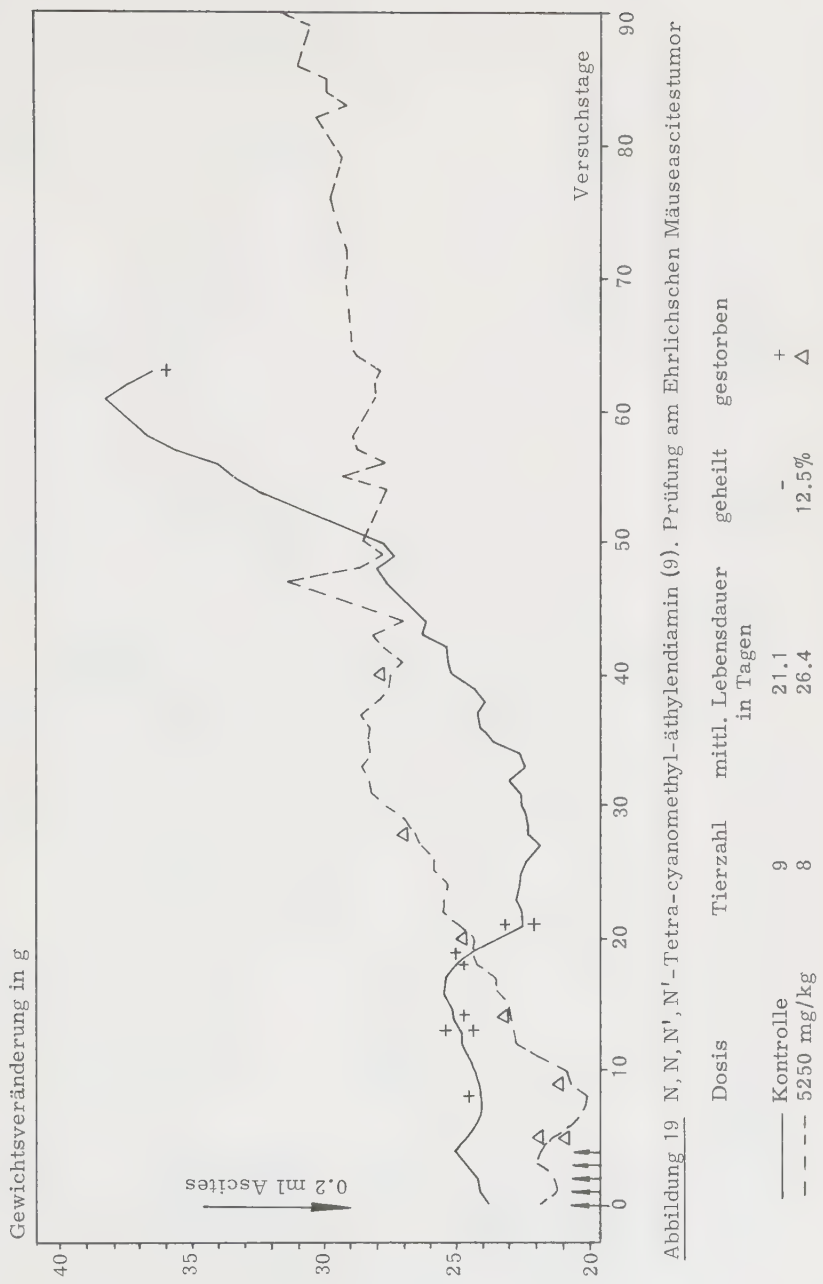
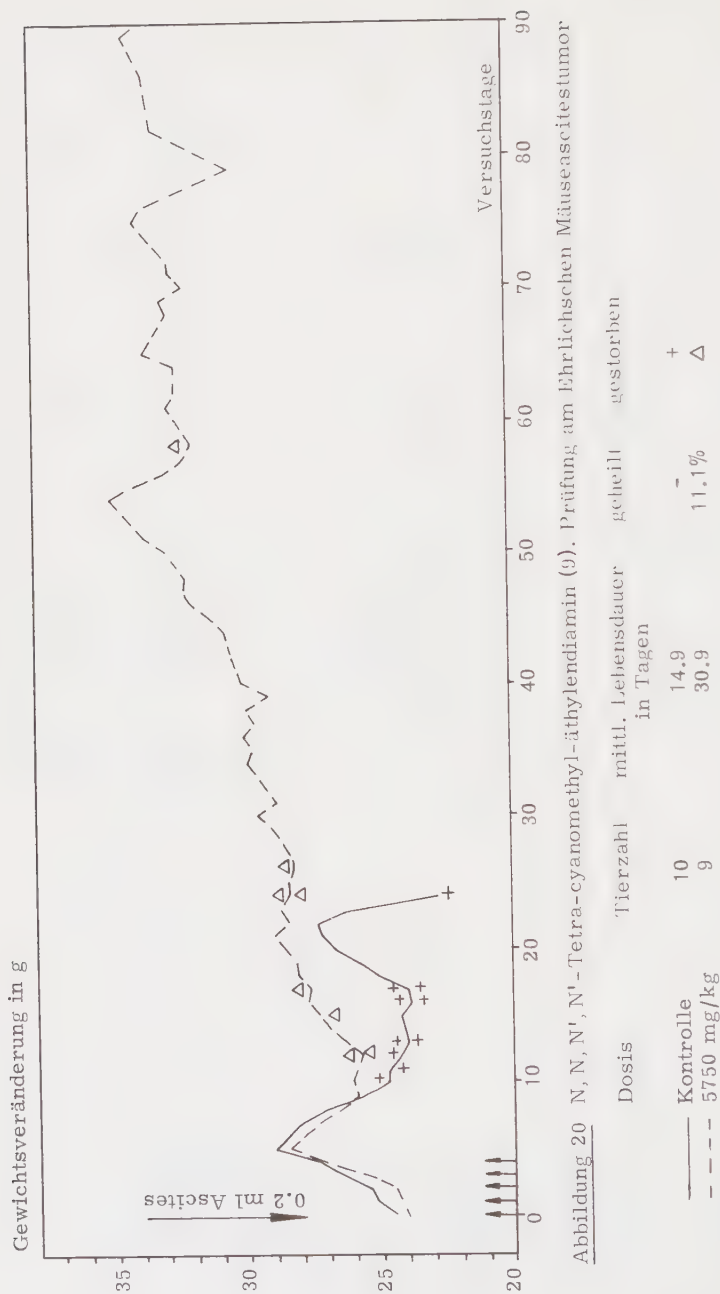


Abbildung 19 N, N', N'-Tetra-cyanomethyl-äthylendiamin (9). Prüfung am Ehrlichen Mäuseascitestumor



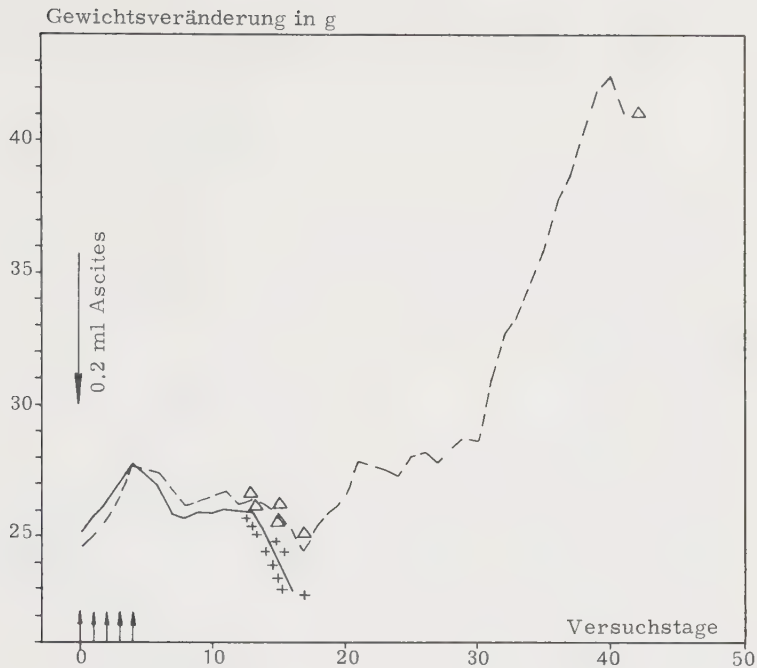
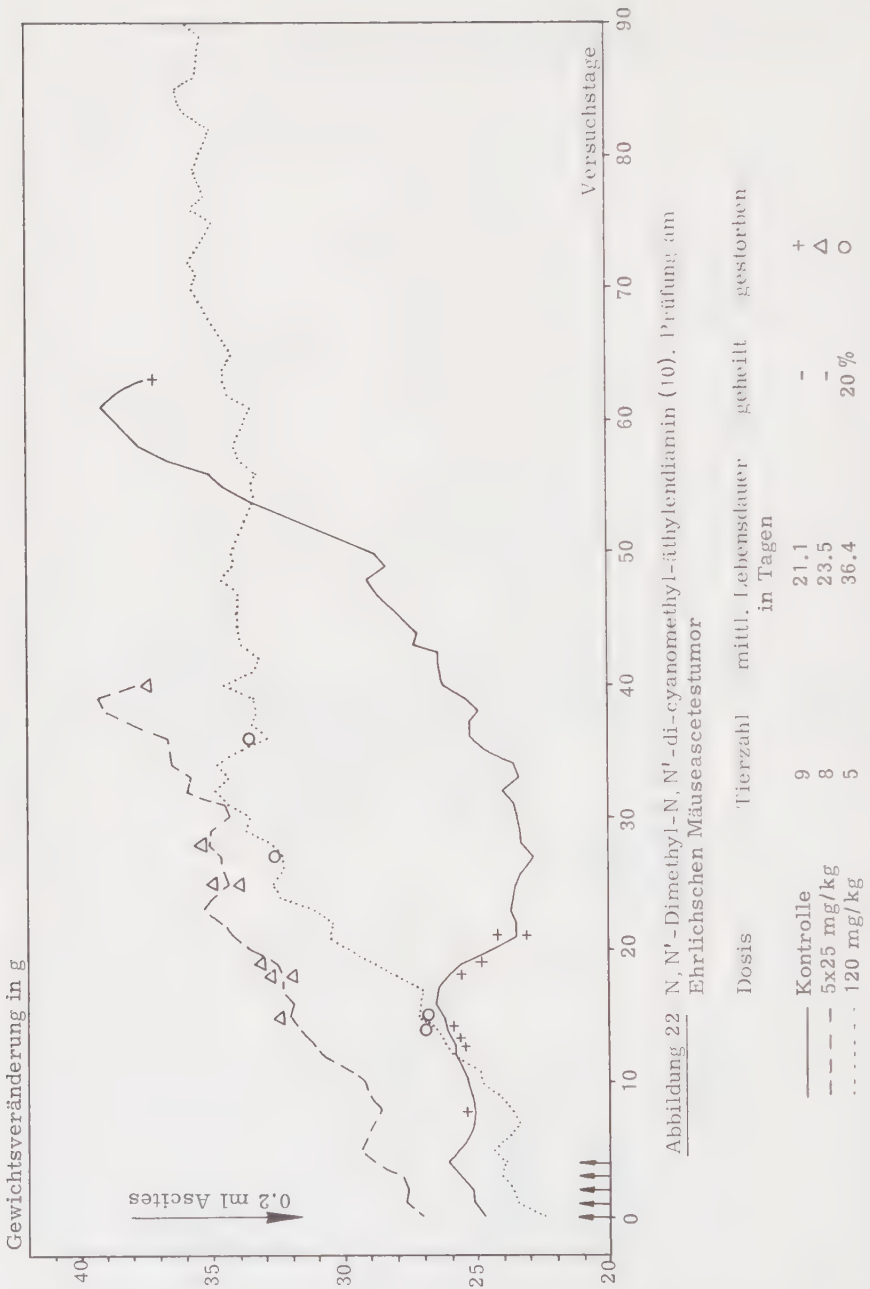


Abbildung 21 N, N'-Dimethyl-N, N'-di-cyanomethyl-äthylendiamin (10)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.5	-	+
- - - 70 mg/kg	6	19.1	-	Δ



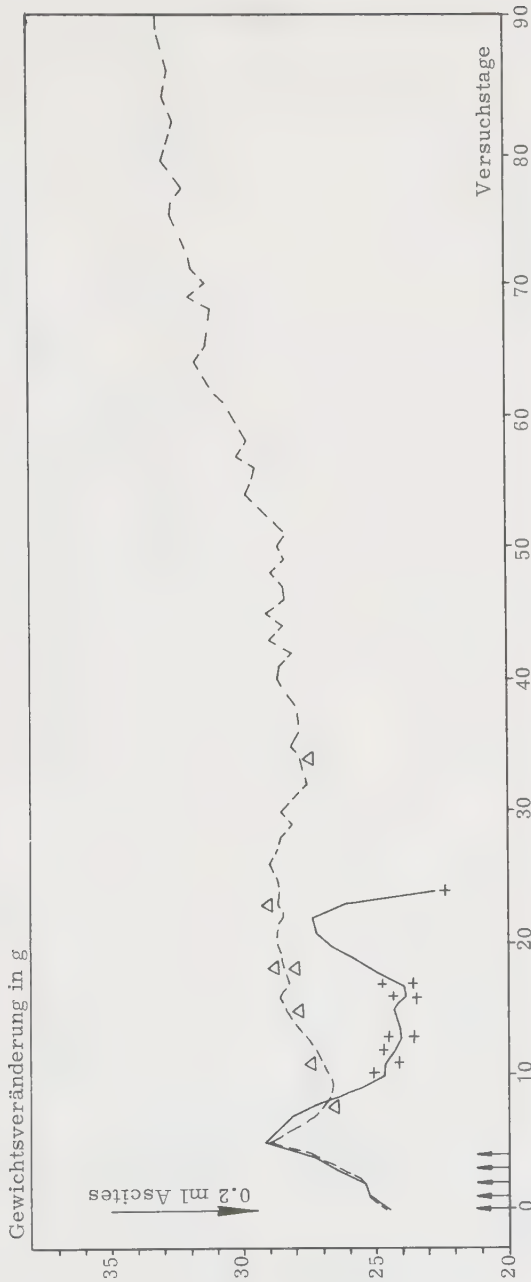
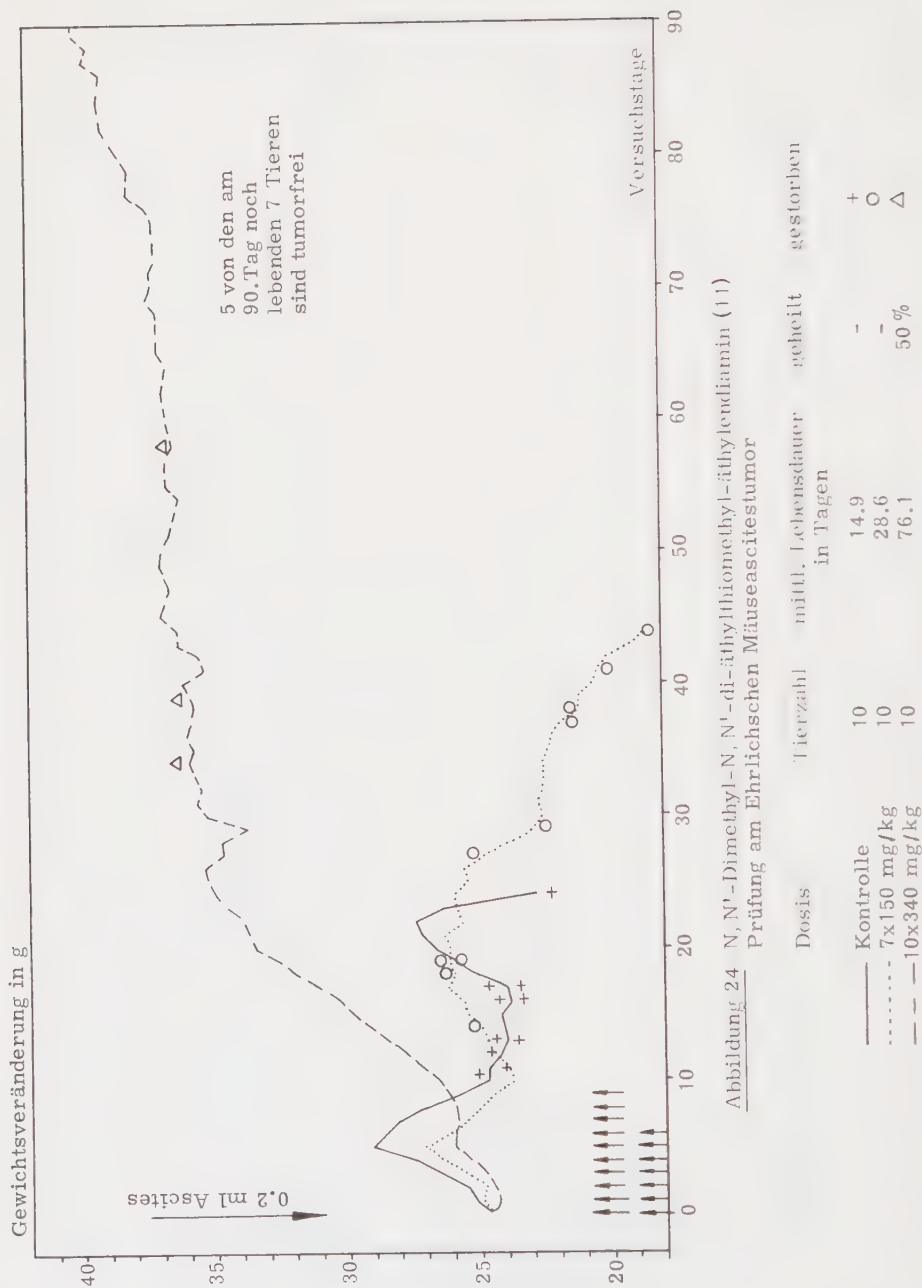
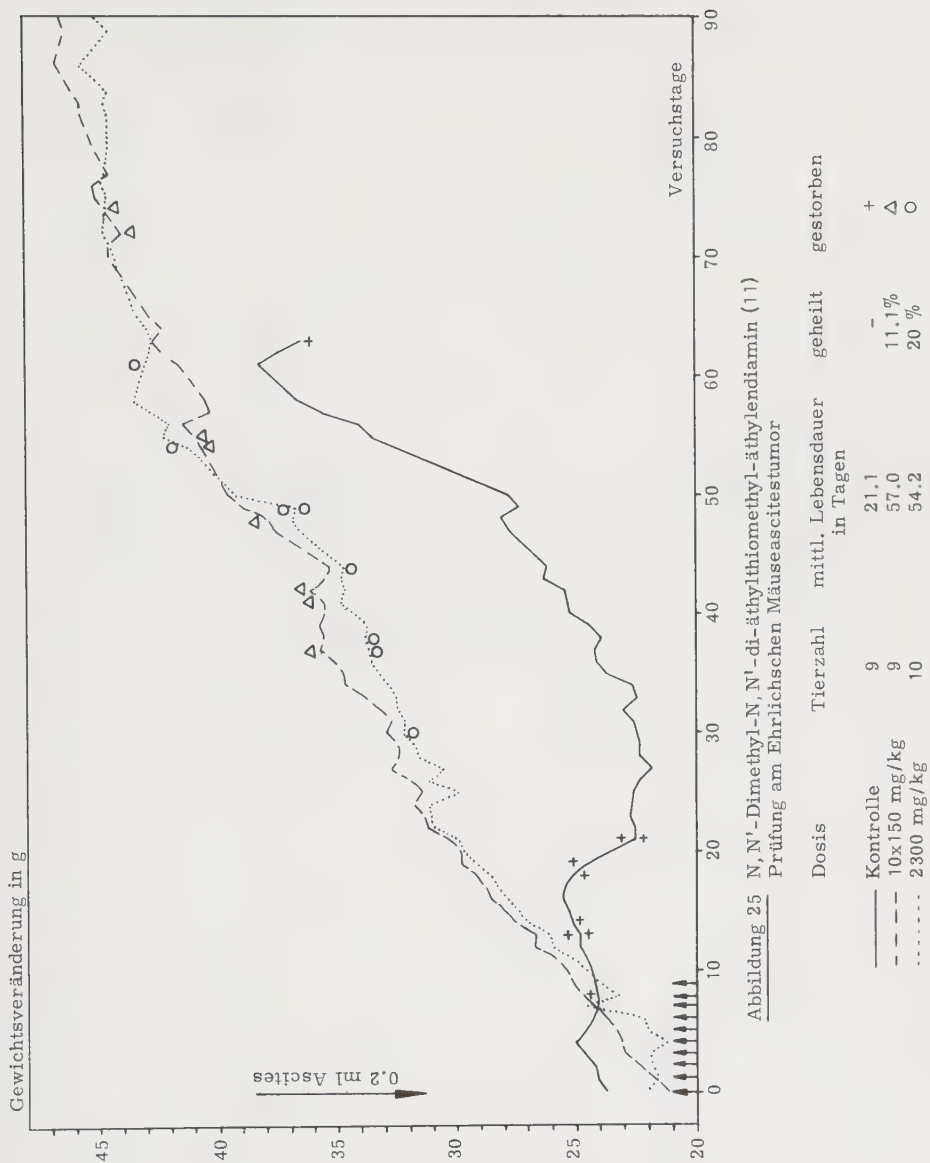


Abbildung 23 N, N'-Dimethyl-N, N'-di-cyanomethyl-äthylendiamin (10). Prüfung am Ehrlichen Mäuseascitestumor

	Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
—	Kontrolle	10	14.9	—	+
- - - -	5x25 mg/kg	9	34.1	22.2%	Δ





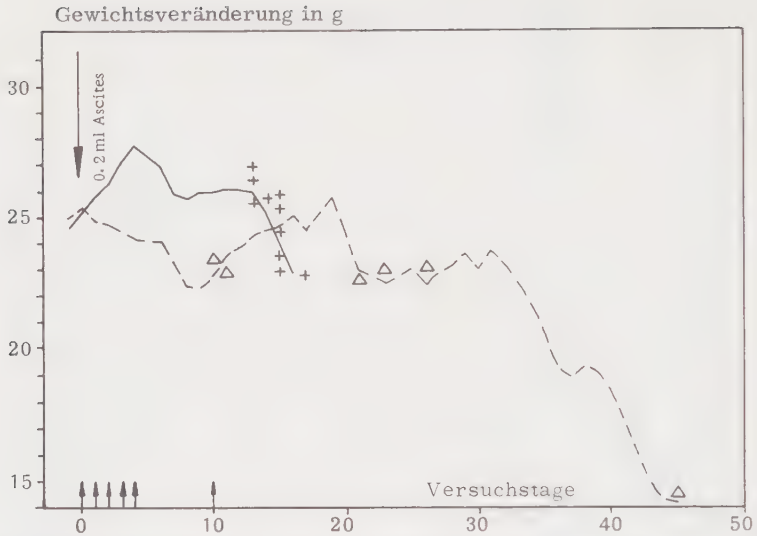


Abbildung 26 N, N'-Dimethyl-N, N'-di-äthylthiomethyl-äthylendiamin (11)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
— Kontrolle	10	14.5	-	+
- - - 1375 mg/kg	6	22.6	-	Δ

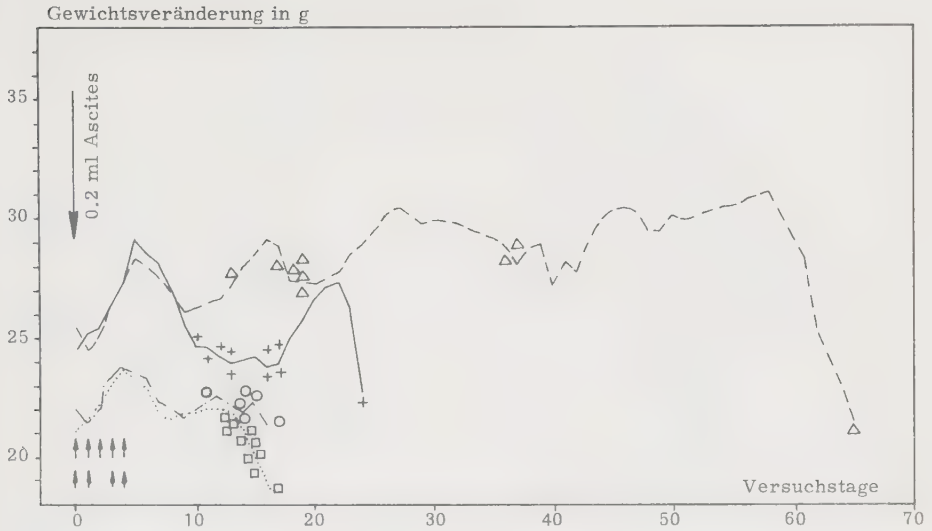
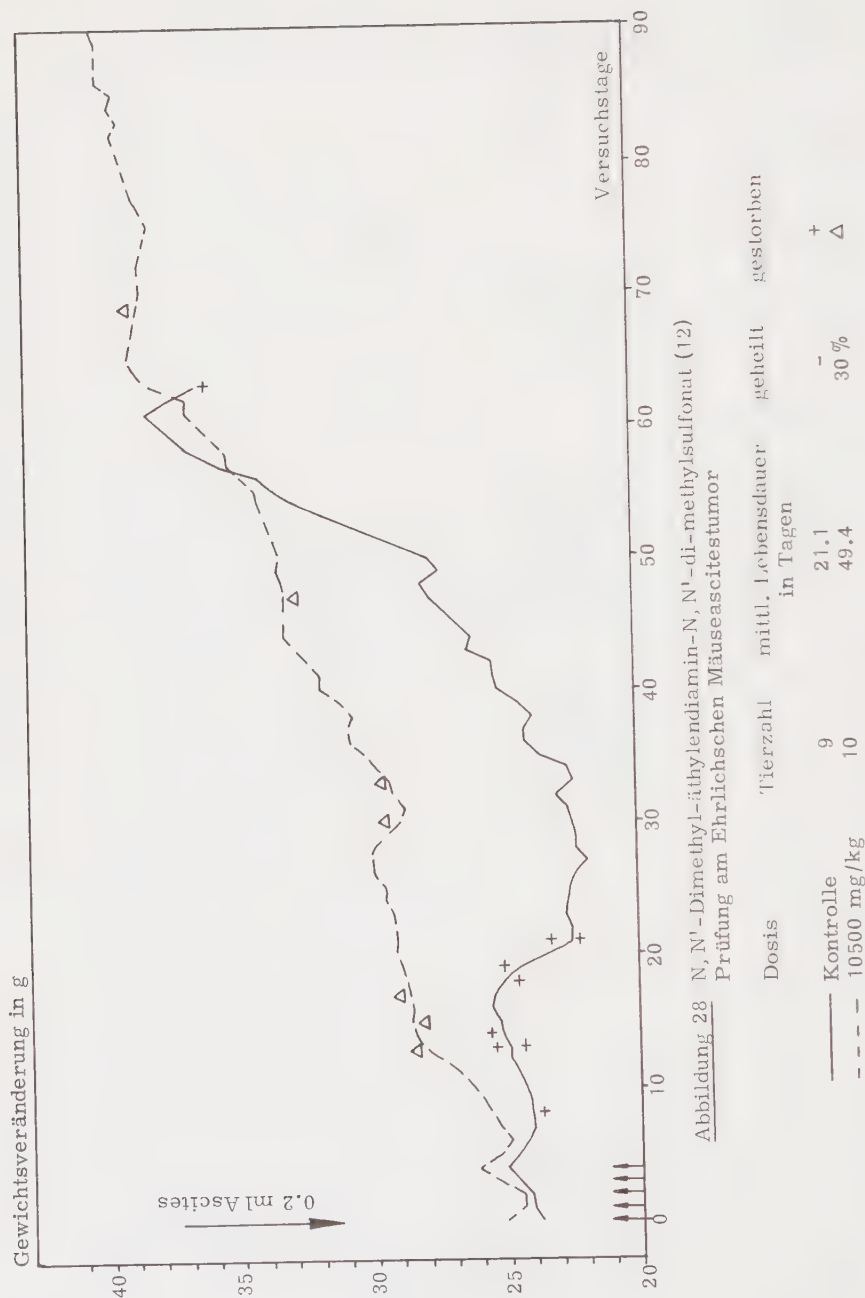


Abbildung 27 N, N'-Dimethyl-äthylendiamin-N, N'-di-methylsulfonat (12)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
----- 10500 mg/kg	9	27.0	-	Δ
———— Kontrolle dazu	10	14.9	-	+
- · - · - 4x1000 mg/kg	6	14.1	-	○
····· Kontrolle dazu	10	14.5	-	□



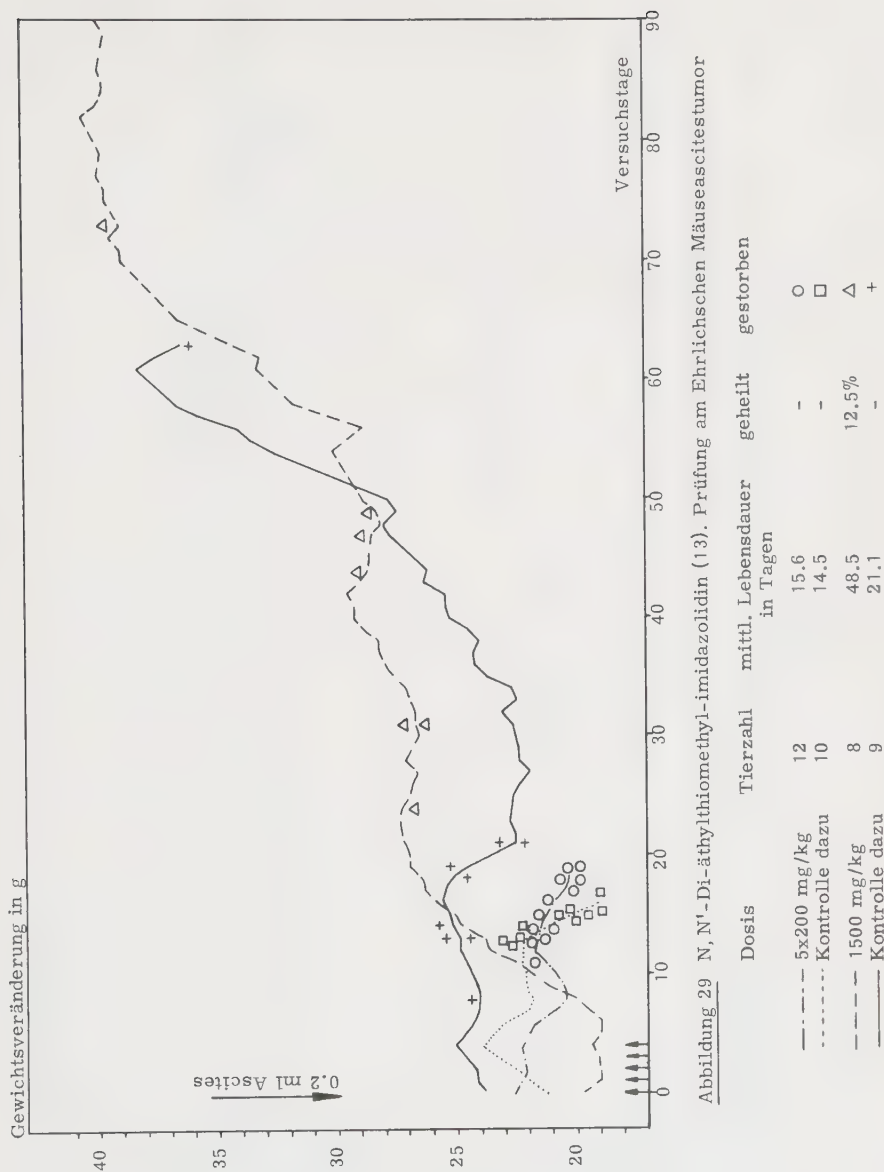
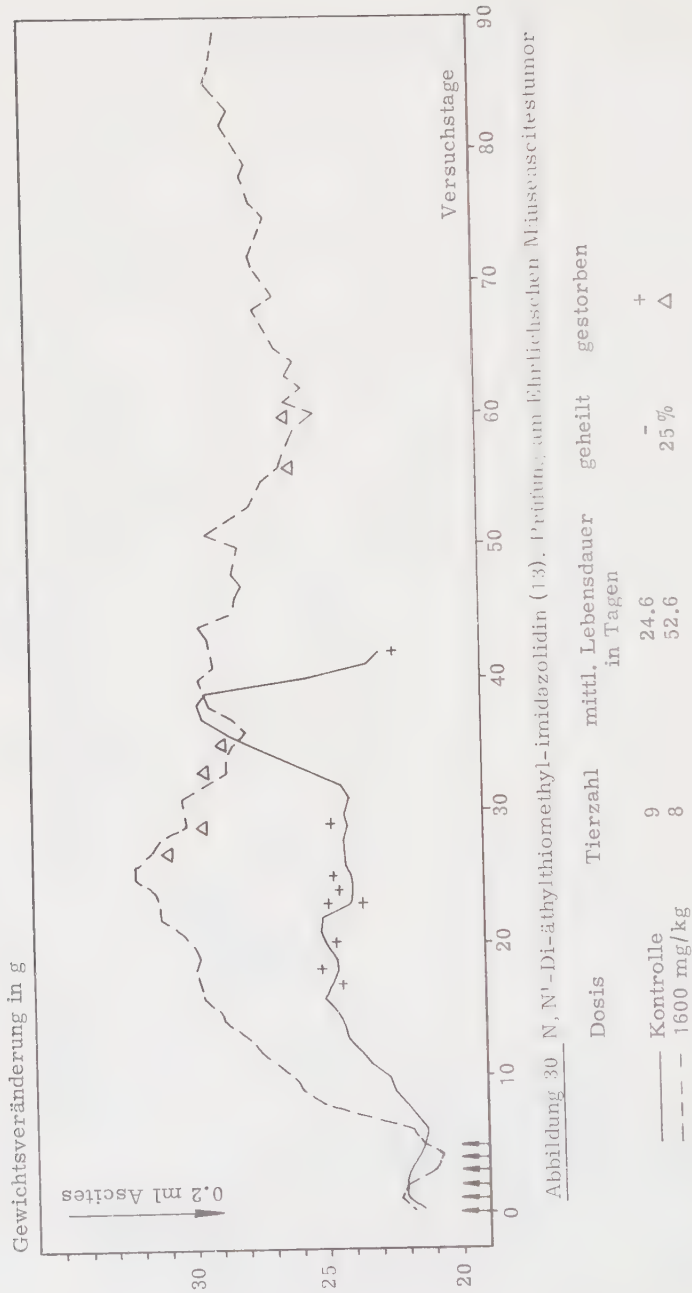


Abbildung 29 N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin (13). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor



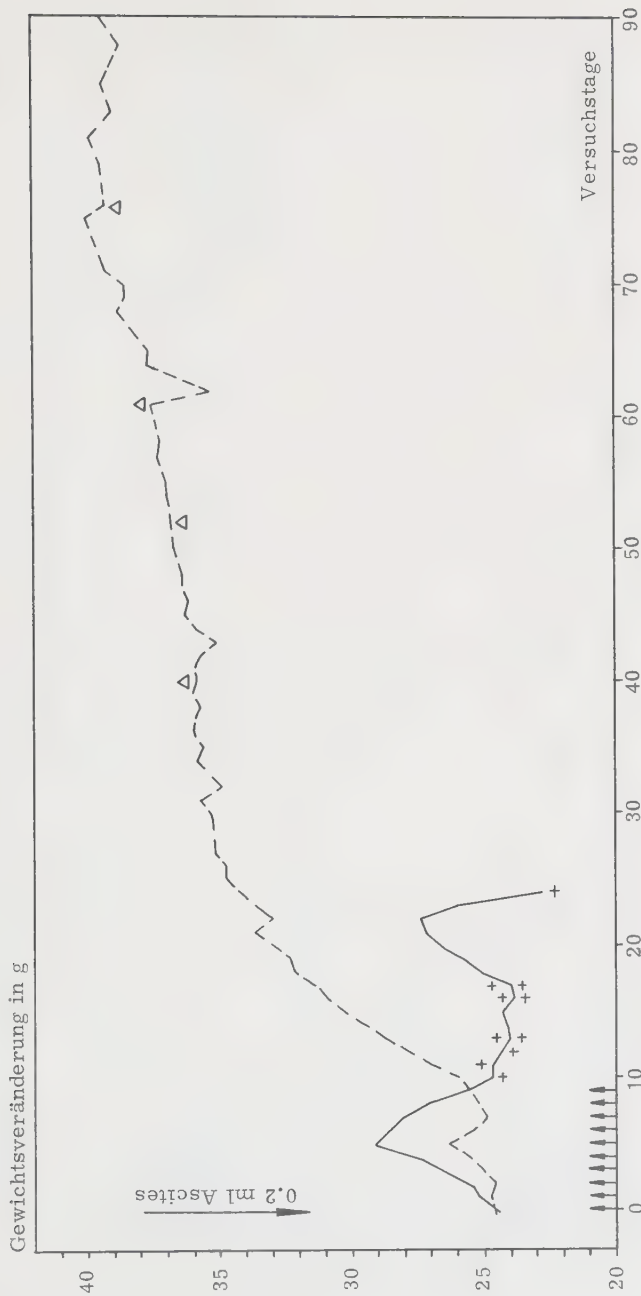


Abbildung 31 N, N'-Di-äthylthiomethyl-imidazolidin (13). Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
Kontrolle	10	14.9	-	+
2500 mg/kg	9	75.4	55.5%	Δ

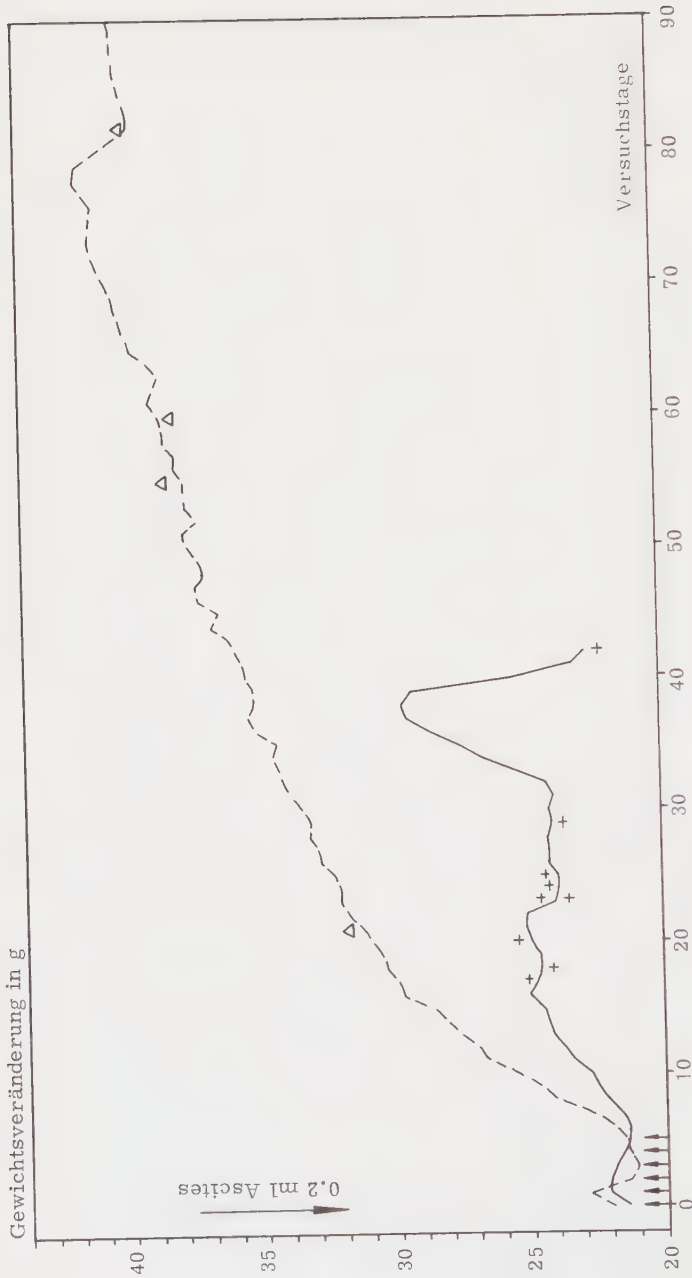


Abbildung 32 1, 4, 6, 9-Tetraaza-tricyclo[4, 4, 1, 1', 4'']dodecan (14)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

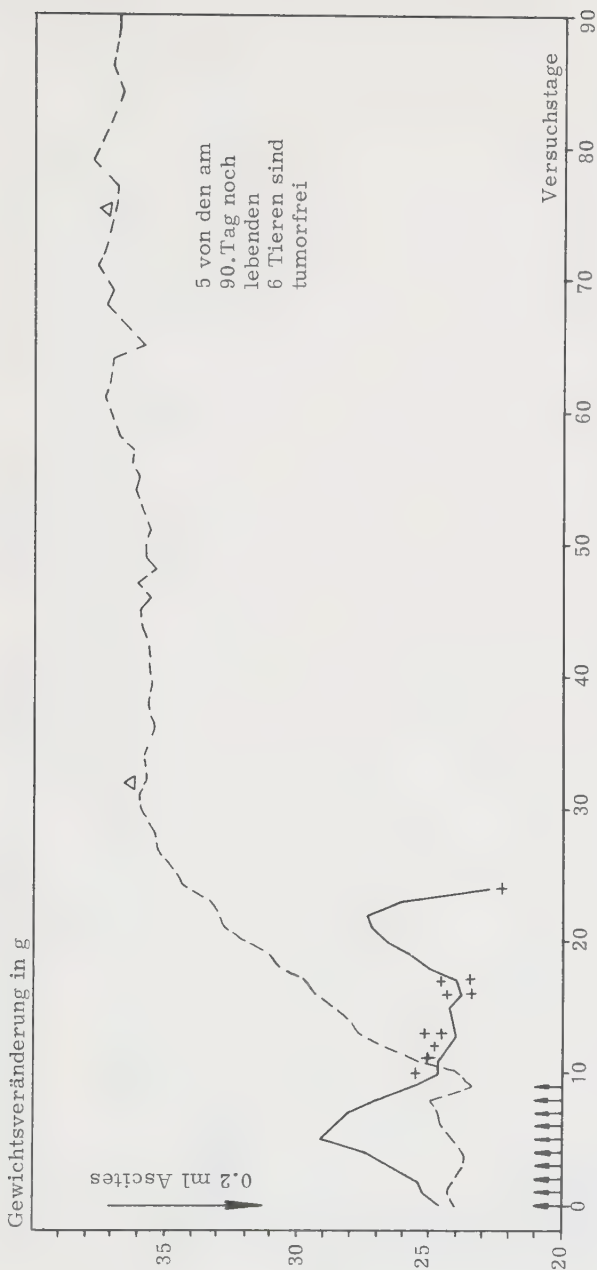
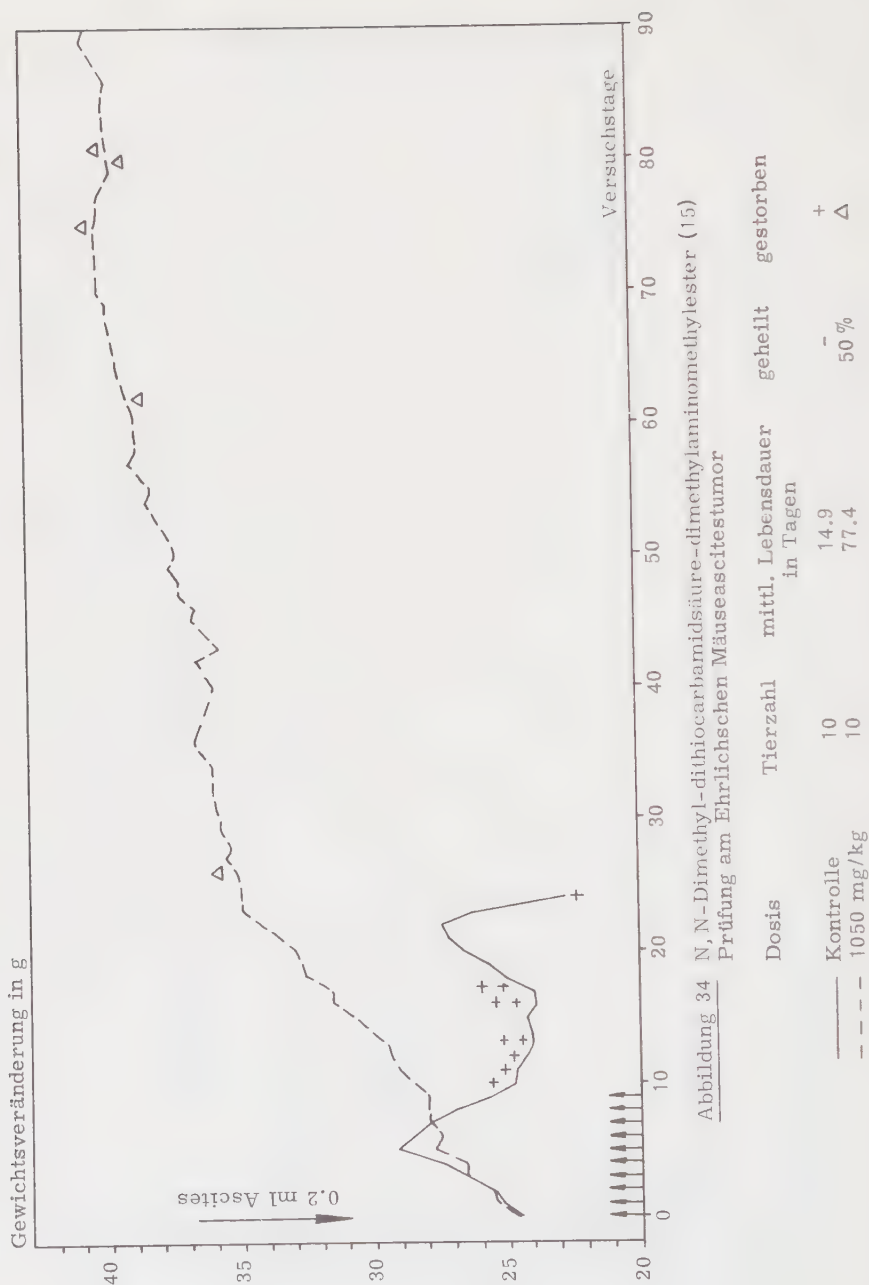
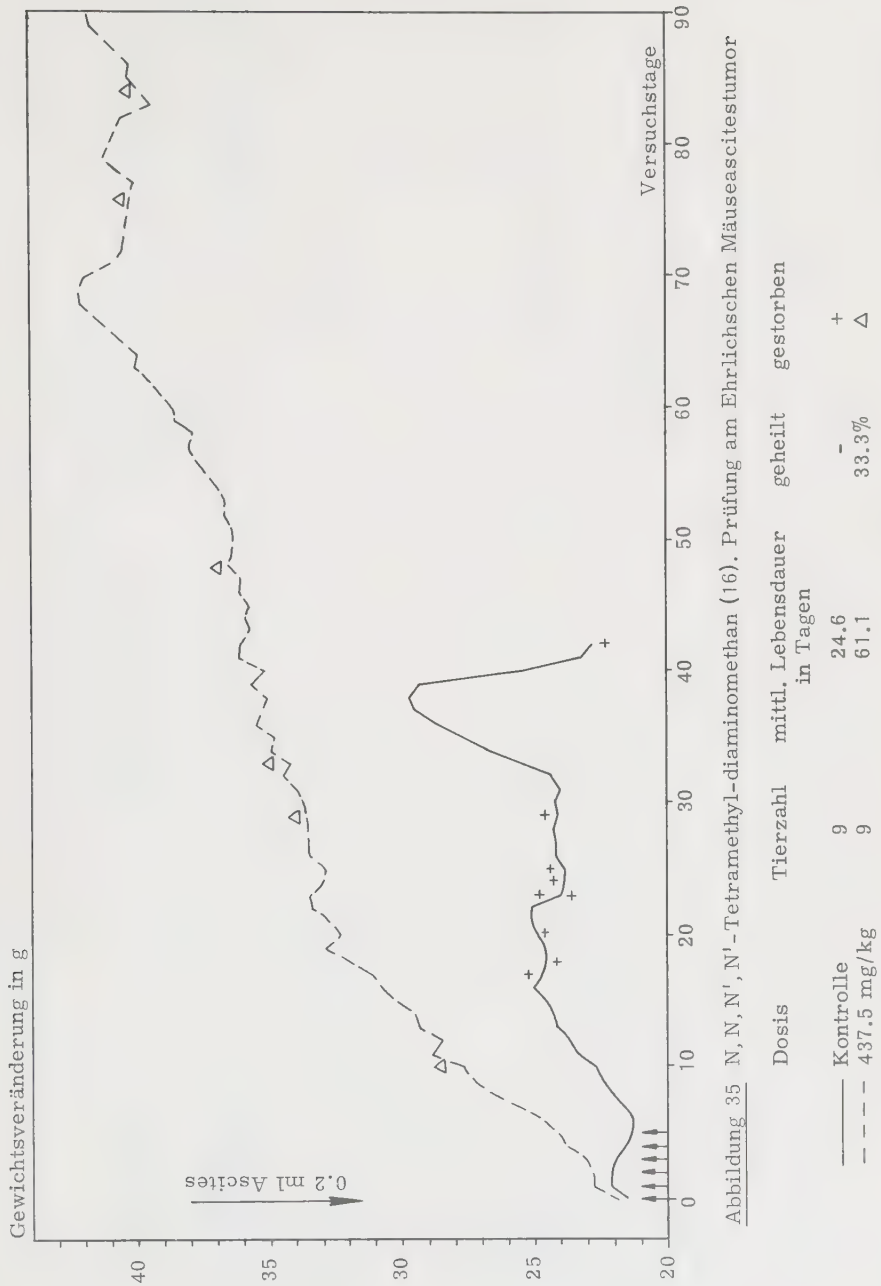
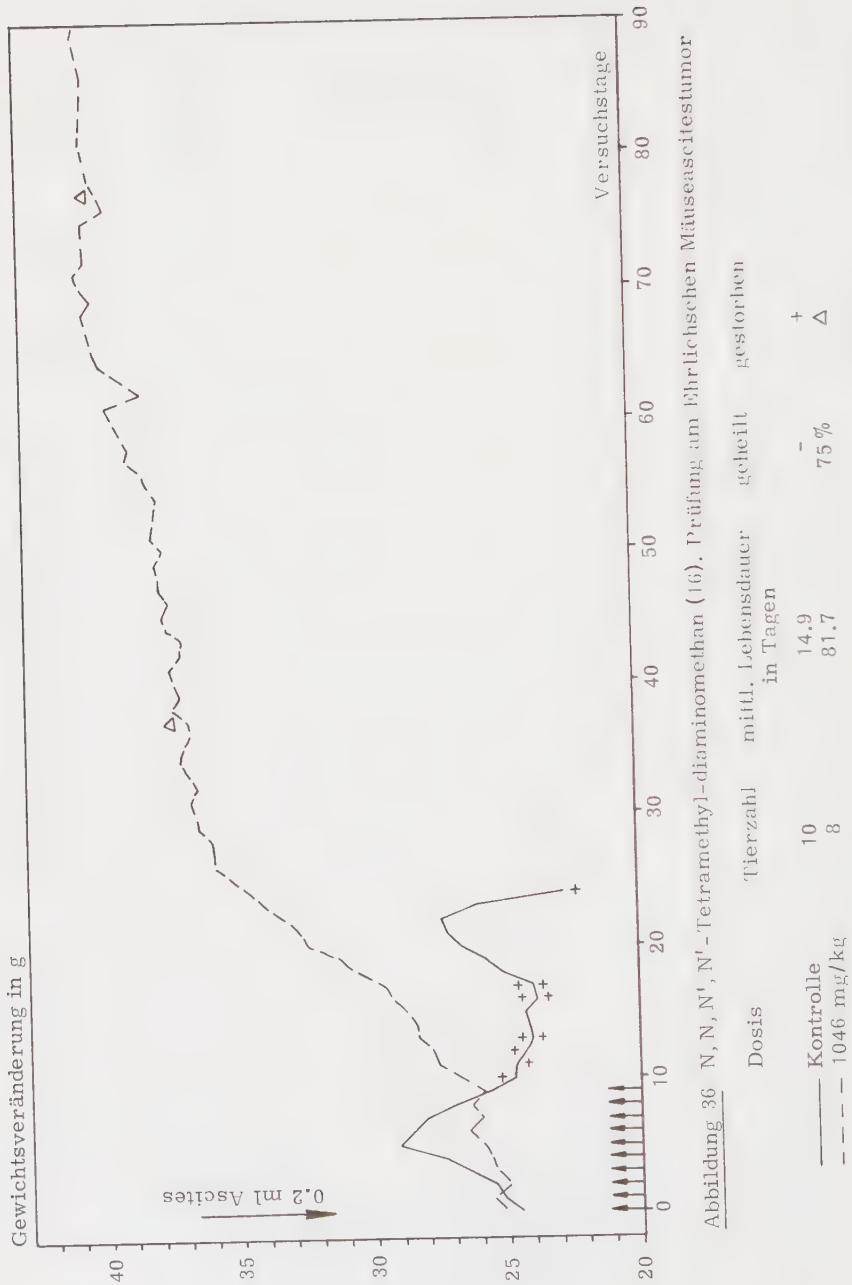


Abbildung 33 1, 4, 6, 9-Tetraaza-tricyclo[4, 4, 1, 1, 4, 9]dodecan (14)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
Kontrolle	10	14.9	-	+
950 mg/kg	8	80.9	62.5%	Δ







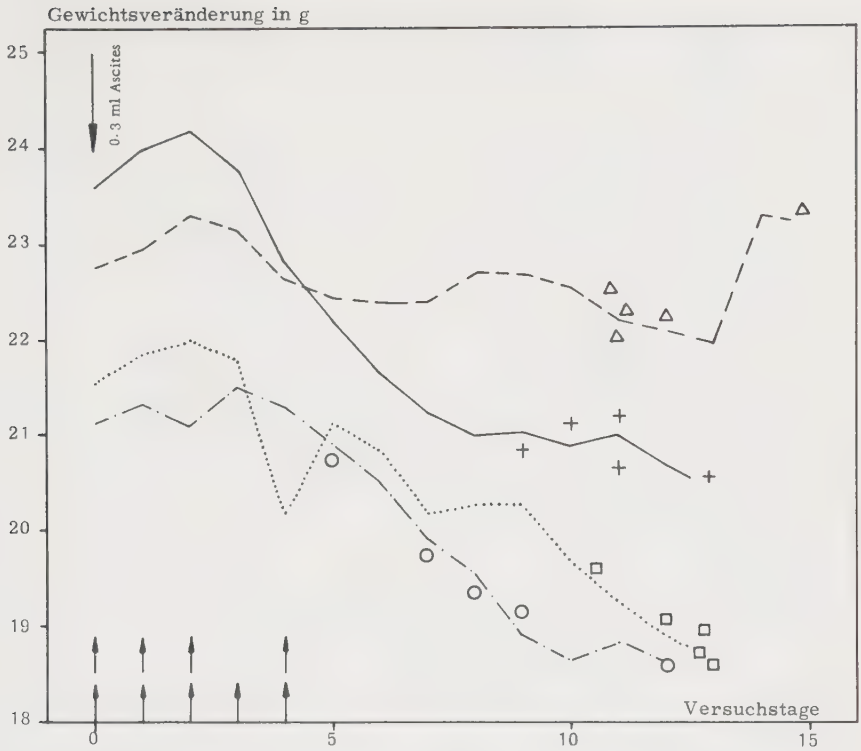


Abbildung 37 N,N-Dimethyl-pyrrolidiniumjodid (17)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
4x25 mg/kg	5	12.0	-	Δ
Kontrolle dazu	5	10.8	-	+
5x25 mg/kg	5	7.8	-	○
Kontrolle dazu	5	12.2	-	□

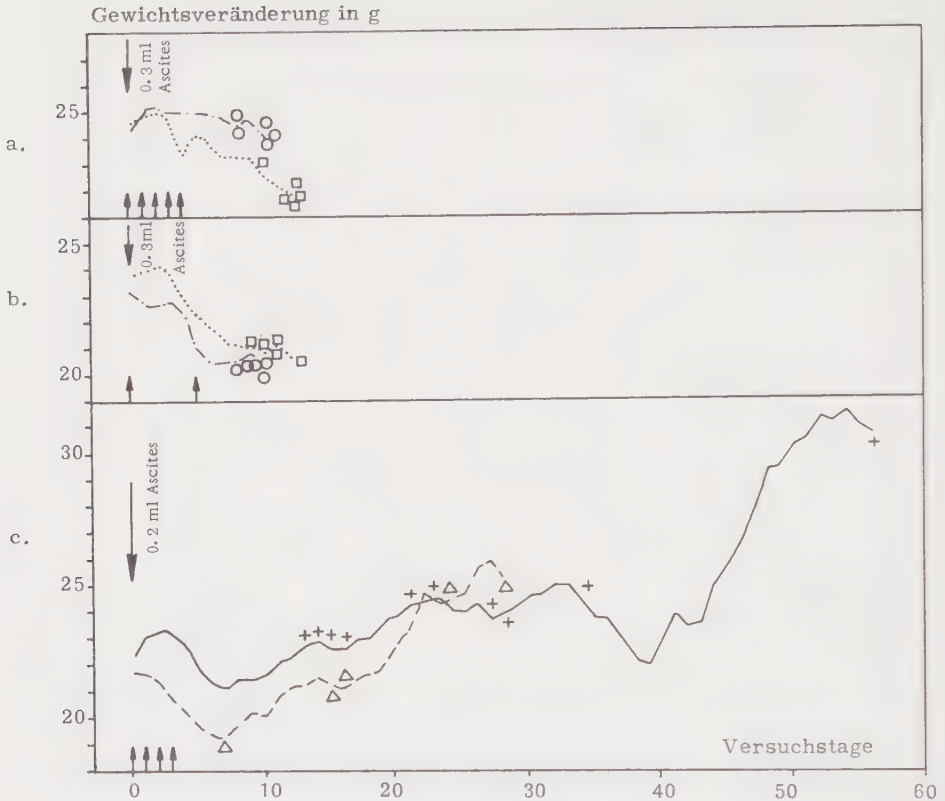


Abbildung 38 α -Phenyl- α -(1-piperidino)-acetonitril (18)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

	Dosis	Tierzahl	Ascites- menge ml	mittl. Lebens- dauer i. Tagen	geheilt	gestorben
a.	--- 5x100 mg/kg	5	0.3	8.8	-	○
	 Kontrolle dazu	5	0.3	12.2	-	□
b.	--- 2x100 mg/kg	5	0.3	9.2	-	○
	 Kontrolle dazu	5	0.3	10.8	-	□
c.	--- 4x37.5 mg/kg	5	0.2	18.0	-	△
	—— Kontrolle dazu	10	0.2	24.7	-	+

Gewichtsveränderung in g

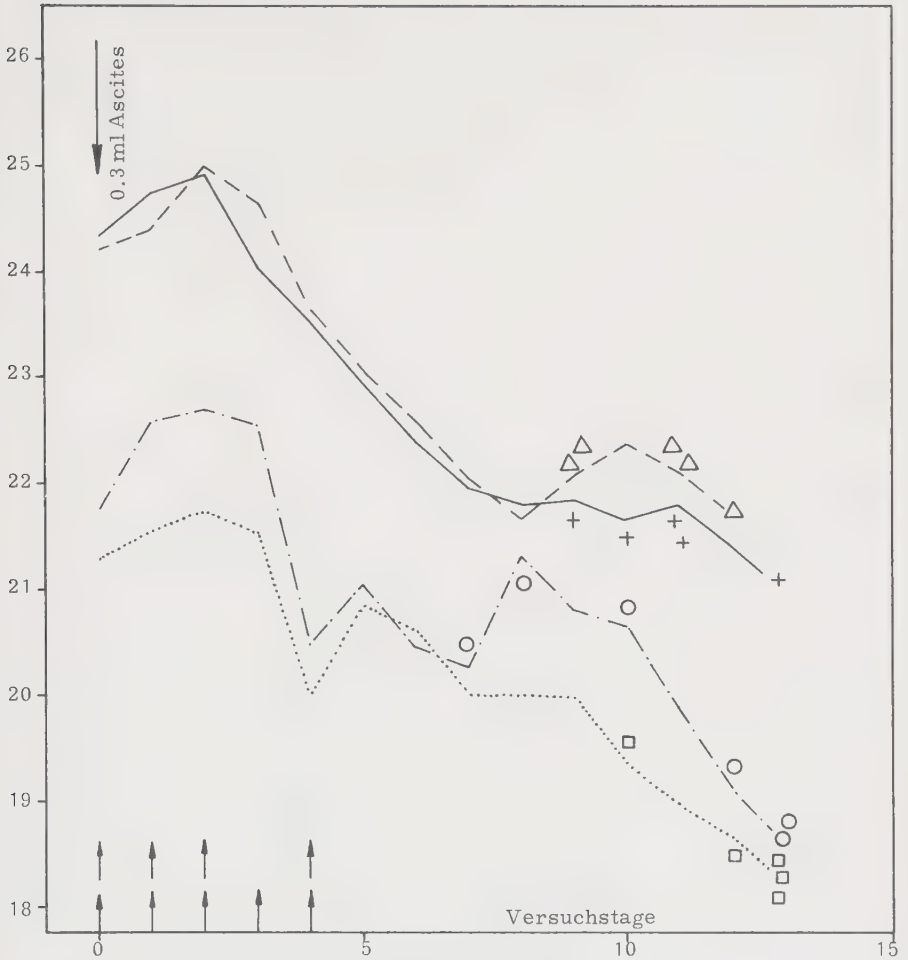


Abbildung 39 N-Äthoxymethyl-piperidin (19)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
----- 4x25 mg/kg	5	10.4	-	△
———— Kontrolle dazu	5	10.8	-	+
- · - · - 5x25 mg/kg	5	10.0	-	○
····· Kontrolle dazu	5	12.2	-	□

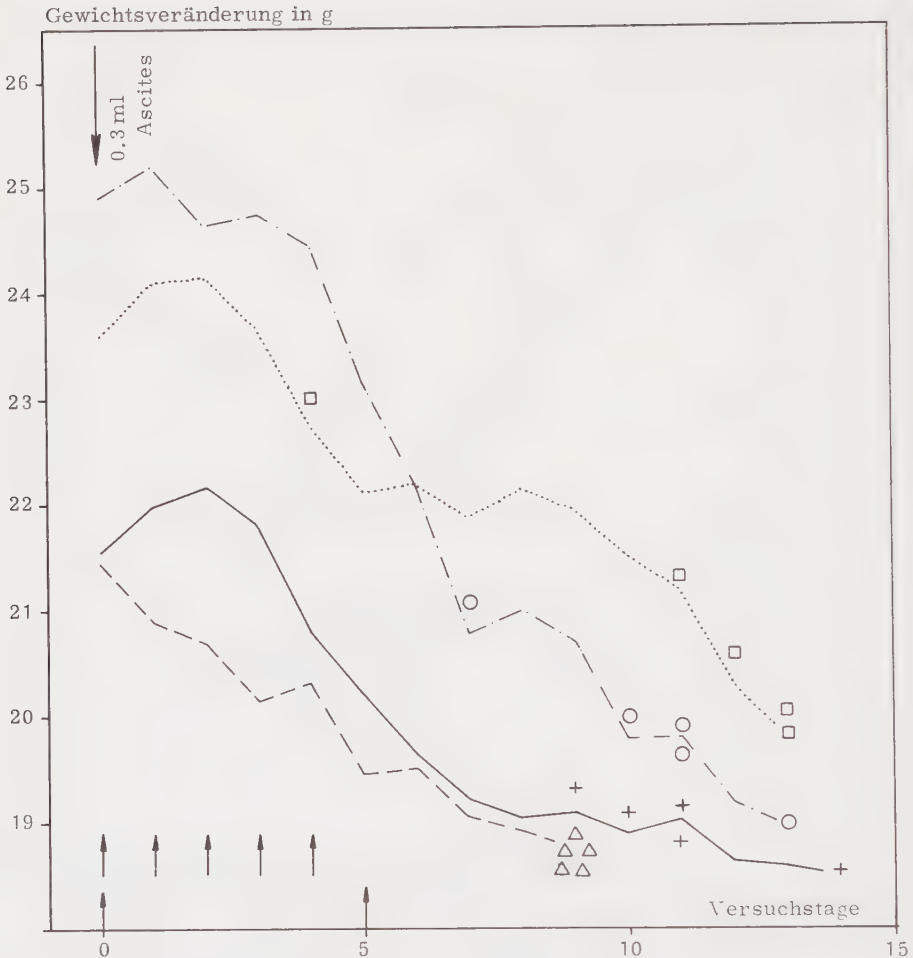


Abbildung 40 N,N-Diäthylaminomethylelessigsäureester (20)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
----- 2x250 mg/kg	5	9.0	-	△
———— Kontrolle dazu	5	10.8	-	+
- · - · - 5x250 mg/kg	5	9.4	-	○
····· Kontrolle dazu	5	10.6	-	□

Gewichtsveränderung in g

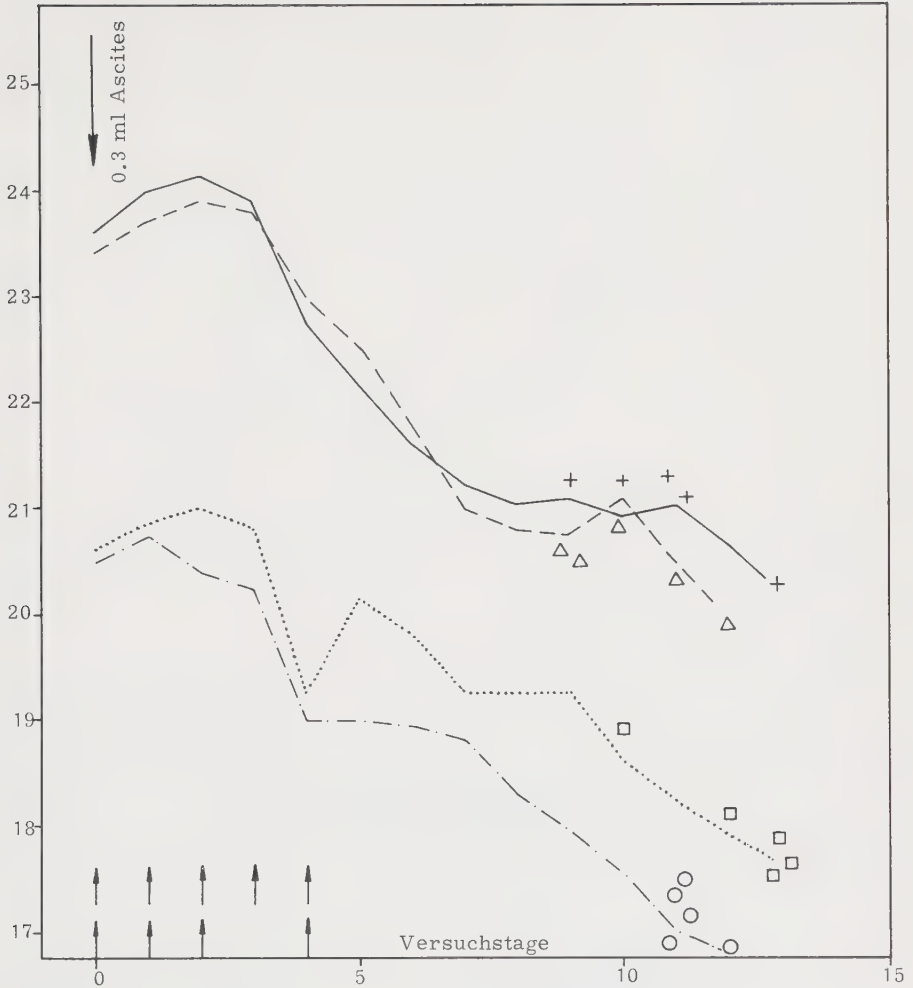


Abbildung 41 4-Hydroxybenzyliden- β -hydroxyäthylamin (21)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
----- 4x250 mg/kg	5	10.2	-	△
———— Kontrolle dazu	5	10.8	-	+
- · - · - 5x250 mg/kg	5	11.2	-	○
····· Kontrolle dazu	5	12.2	-	□

Gewichtsveränderung in g

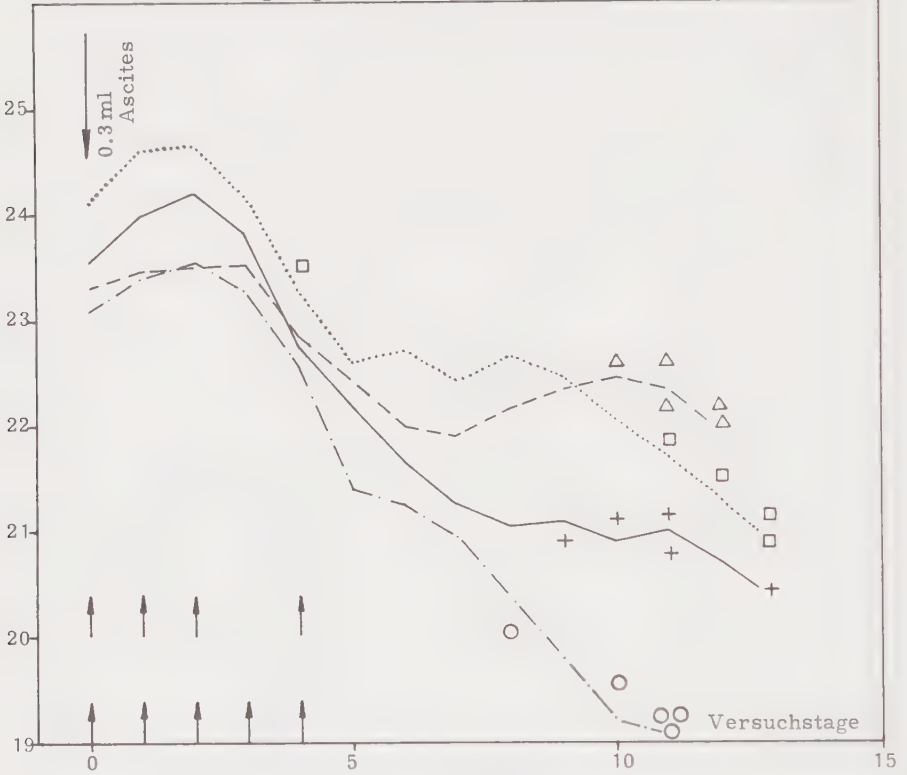


Abbildung 42 4-Hydroxybenzylidenmethylamin (22)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
--- 4x250 mg/kg	5	11,2	-	Δ
— Kontrolle dazu	5	10,8	-	+
- · - 5x250 mg/kg	5	10,2	-	○
····· Kontrolle dazu	5	10,6	-	□

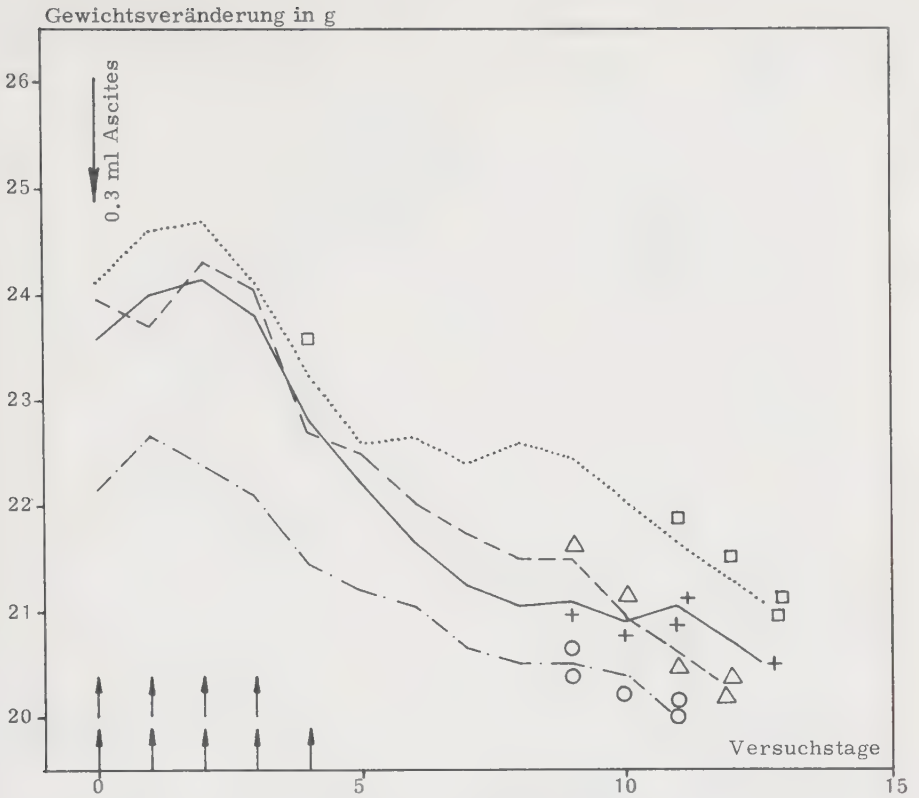


Abbildung 43 3, 4-Di-hydroxybenzylidenmethylamin (23)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
----- 4x250 mg/kg	5	10.8	-	△
———— Kontrolle dazu	5	10.8	-	+
- · - · - 5x250 mg/kg	5	10.0	-	○
····· Kontrolle dazu	5	10.6	-	□

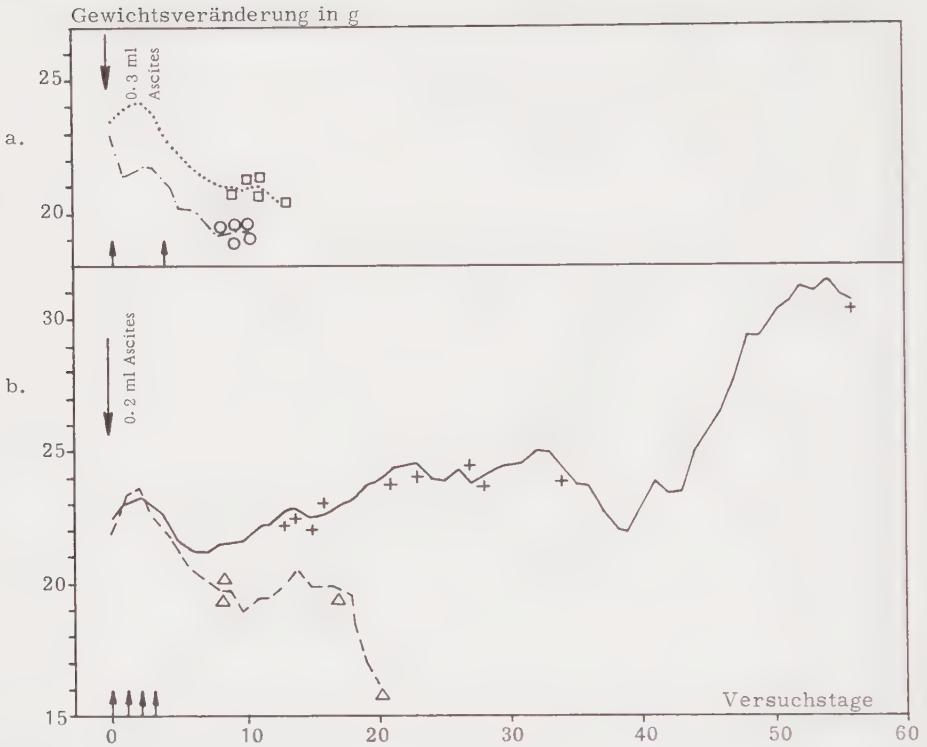


Abbildung 44 Benzylidenanthranilsäure (24)
Prüfung am Ehrlich'schen Mäuseascitestumor

	Dosis	Tierzahl	Ascites- menge ml	mittl. Lebens- dauer i. Tagen	geheilt	gestorben
a.	----- 2x1000 mg/kg	5	0.3	9.2	-	○
	 Kontrolle dazu	5	0.3	10.8	-	□
b.	----- 4x250 mg/kg	4	0.2	13.2	-	△
	———— Kontrolle dazu	10	0.2	24.7	-	+

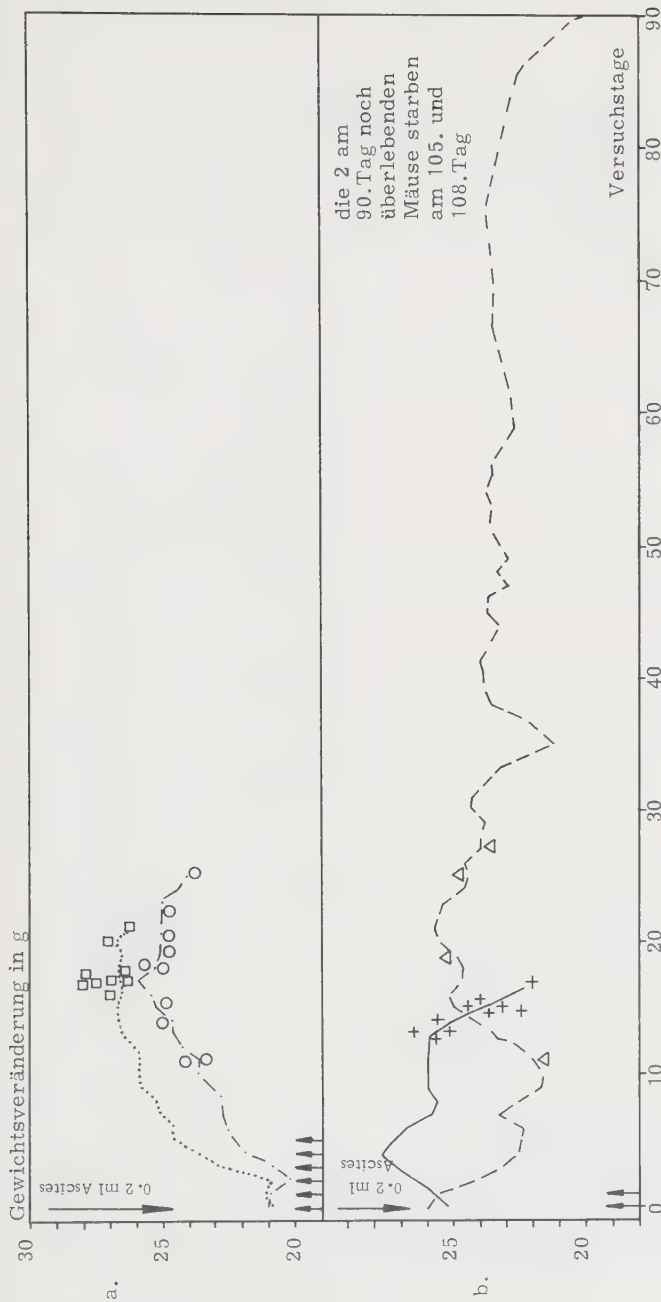
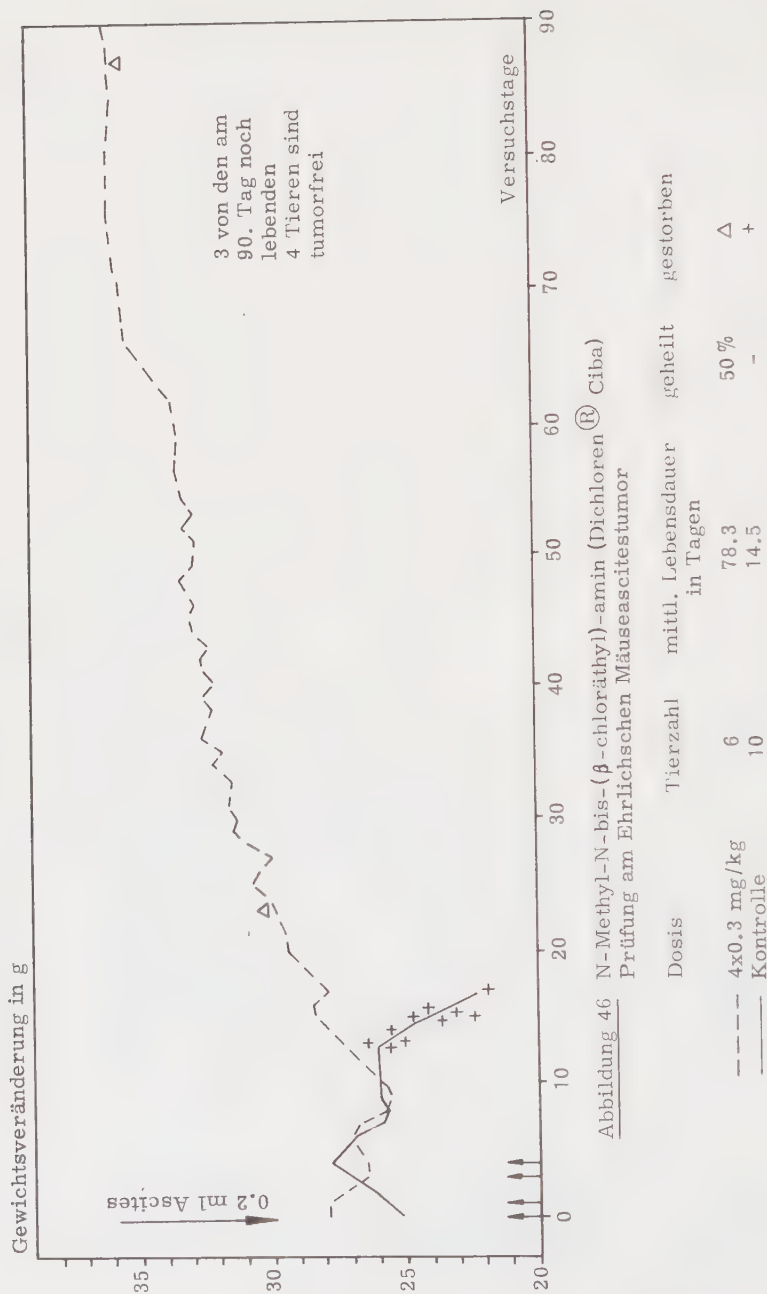


Abbildung 45 N, N-Bis-(β -chloräthyl)-N', O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Endoxan [®] Asta)
Prüfung am Ehrlichschen Mäuseascitestumor

	Dosis	Tierzahl	mittl. Lebensdauer in Tagen	geheilt	gestorben
a.	6x15 mg/kg	10	17.3	-	○
	Kontrolle dazu	9	17.6	-	□
b.	2x80 mg/kg	6	43.6	-	△
	Kontrolle dazu	10	14.5	-	+



E. ZUSAMMENFASSUNG

Es ist noch ungeklärt, ob die cytotoxische Wirkung von Hydroxymethyl- und Alkoxyethylmelaminderivaten auf deren Melaminstruktur beruht, oder ob bei α -aminoalkylierenden Verbindungen derartige Effekte ganz allgemein zu erwarten sind. Ebenso ist unbekannt, ob bei dieser Stoffklasse einer monomeren oder der von J.A. HENDRY und Mitarbeitern (26) postulierten polymeren Wirkform der Vorzug zu geben ist.

Zur Beantwortung dieser uns überaus wichtig erscheinenden Fragen wurden Verbindungen der allgemeinen Formel $\begin{matrix} R \\ \diagup \\ N-CH_2-X \\ \diagdown \\ R \end{matrix}$ mit 1, 2, 3, 4 und 6 reaktiven Zentren hergestellt und im Tierversuch, nach Bestimmung der Toxizität, am Ehrlichschen Mäuseascitestumor untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Verbindungsklasse der α -Aminoalkylierungsmittel ganz allgemein tumorhemmende Eigenschaften besitzt, wobei es unwesentlich ist, ob die Substanzen eine oder mehrere alkylierende Gruppen im Molekül tragen. Eine polymere Form kann somit für die cytostatische Wirkung nicht verantwortlich gemacht werden.

Die carcinostatische Wirkung dieser Verbindungen beruht auf der Fähigkeit, Carbonium-Imonium-Ionen zu bilden, eine Eigenschaft, die vor allem den Substanzen zukommt, deren Rest X neben der CH_2 -Gruppe ein Atom mit ungebundenem Elektronenpaar trägt. Trotzdem darf aber die Reaktivität der Stoffe nicht so groß sein, daß ihre Stabilität darunter leidet; sie müssen unzersetzt bis in die Tumorzelle gelangen können.

Diese Eigenschaften vereinen in idealer Weise die wasserlöslichen Vertreter der Alkylthiomethylamin- und Dialkylaminomethylaminderivate, die eine ebenso gute - oder zum Teil sogar bessere - tumorhemmende Wirkung am Ehrlichschen Mäuseascitescarcinom zeigen, wie bekannte, in der Chemotherapie von Tumoren bereits bewährte Stickstofflostverbindungen. Zudem besitzen sie eine bedeutend geringere Toxizität.

Die Alkylthiomethylamin- und Dialkylaminomethylaminderivate sind Transportformen, die in der sauren Tumorzelle in die Wirkform - das Carbonium-Imonium-Ion - übergehen und dort ihre Wirkung entfalten. Auf Grund ihrer basischen Eigenschaften ist für diese Verbindungen zudem eine verstärkte Anreicherung im Krebsgewebe wahrscheinlich.

F. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) AMUNDSEN, L.H. und J.Amer.chem.Soc. 61, 212 (1939)
R. VELITZKIN
- (2) ARNOLD, H., F. Arzneimittel.-Forsch. 11, 143 (1961)
BOURSEAU und N.BROCK
- (3) BEUTEL, R. Über die Reaktionsweise von Alkynyl-
GRIGNARD-Verbindungen mit Schiffchen
Basen und α -Aminonitrilen zugleich Studien
über die Beeinflussung der anästhetischen
Wirksamkeit α -verzweigter Amine vom
Typ der Benzhydrylamine durch Änderung
der Elektronenverteilung am α -C-Atom.
Dissertation, Universität München,
(1964) S. 22-25
- (4) BISCHOFF, C.A. Ber.dtsch.chem.Ges. 31, 3248 (1898)
- (5) BÖHME, H. und Angew.Chem. 72, 523 (1960)
E. KÖHLER
- (6) BROCK, N. Arzneimittel.-Forsch. 7, 727 (1957)
- (7) BROCK, N. und Arzneimittel.-Forsch. 11, 164 (1961)
H.-J. HOHORST
- (8) CRAWFORD, M.A. Personal Communication (1960)
zit. nach (39) S. 144
- (9) CROMWELL, N.H. J.Amer.chem.Soc. 68, 2634 (1946)
- (10) CURTIUS, Th. Ber.dtsch.chem.Ges. 31, 2490 (1898)
- (11) DANIELLI, J.F., Surface Phenomena in Chemistry and
K.G.A. PANKHURST und Biology, Pergamon Press, London-New
A.C. RIDDIFORD York-Paris-Los Angeles (1958) S. 246
- (12) DRUCKREY, H., Arzneimittel.-Forsch. 6, 539 (1956)
D. SCHMÄHL, P.
DANNEBERG, K.KAISER,
H.A. NIEPER, H.W. LO
und R. MECKE
- (13) DRUCKREY, H. Dtsch.med.Wschr. 77, 1534 (1952)
- (14) EICHLER, O. und Arzneimittel.-Forsch. 2, 359 (1952)
W. PLEWA
- (15) EICHLER, O. und Arzneimittel.-Forsch. 3, 355 (1953)
I. STAIB
- (16) EICHLER, O. und Arzneimittel.-Forsch. 4, 268 (1954)
I. STAIB
- (17) EICHLER, O. und Arzneimittel.-Forsch. 6, 119 (1956)
I. STAIB

- (18) FREUDENBERG, K. Grundriß der medizinischen Statistik, Friedrich-Karl Schattauer-Verlag, Stuttgart (1962)
- (19) GAMS, A., G. WIDMER und W. FISCH Helv.chim.Acta 24, 302E (1941)
- (20) HECHENBLEIKNER, I. U.S.Pat. 2476547 (1949)
- (21) HECHENBLEIKNER, I. U.S.Pat. 2476548 (1949)
- (22) HECKER, E. Verteilungsverfahren im Laboratorium, Verlag Chemie, Weinheim (1955) S.104-107
- (23) HELLMANN, H. und G. OPITZ α -Aminoalkylierung, Verlag Chemie, Weinheim (1960) S. 1
- (24) HELLMANN, H. und G. OPITZ α -Aminoalkylierung, Verlag Chemie, Weinheim (1960) S. 226
- (25) HELLMANN, H. und G. OPITZ Angew.Chem. 68, 265 (1956)
- (26) HENDRY, J.A., F.L.ROSE und A.L. WALPOLE Brit.J.Pharmacol. 6, 201 (1951)
- (27) HENRY, L. Bull.Acad.Roy.Belgique 26, 200 (1893)
- (28) JÄGER, J.H. Ber.dtsch.chem.Ges. 9, 1554 (1876)
- (29) KÄRBER, G. zit. nach L. THER, Pharmakologische Methoden, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1949)
- (30) KAHLER, H. und W.B. ROBERTSON J.Nat.Cancer Inst. 3, 495 (1943)
- (31) KRÖGER, H. Z.naturwiss.-med.Grundlagenforsch. 1, 126-141 (1963)
- (32) LACOSTE, R.G. und A.E. MARTELL J.Amer.chem.Soc. 77, 5512 (1955)
- (33) MAGNAGHI, C. Gazzetta chim.Ital. 15, 485, 498
- (34) OETTEL, H. und G. WILHELM Arzneimittel.-Forsch. 4, 691 (1954)
- (35) OSTERHOUT, W.J.V. J.gen.Physiol. 8, 131 (1925)
zit. nach J. BÜCHI, Grundlagen der Arzneimittelforschung und der synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel (1963) S. 448
- (36) RAUEN, H.M. Hippokrates 34, 429-434 (1963)
- (37) ROBINSON, G.M. und R. ROBINSON J.chem.Soc. (London) 123, 532 (1923)
- (38) ROSS, W.C.J. Biological Alkylating Agents, London, Butterworths (1962) S. 12

- (39) ROSS, W.C.J. Biological Alkylating Agents, London, Butterworths (1962) S. 144-145
- (40) ROSS, W.C.J. Biological Alkylating Agents, London, Butterworths (1962) S. 104
- (41) SEXTON, W.A. Chemische Konstitution und biologische Wirkung, Verlag Chemie, Weinheim (1958) S. 351, 352, 354, 355
- (42) STACY, G.W. und R.J. MORATH J.Amer.chem.Soc. 74, 3885 (1952)
- (43) SÜDDEUTSCHE KALK-STICKSTOFF-WERKE AG. Melamin, Monographie TROSTBERG
- (44) TRAVELL, J. J.Pharmacol.exper.Therap. 69, 21 (1940)
- (45) ULRICH, H. und E. PLOETZ U.S.Pat. 2205995 (1940)
- (46) VOEGTLIN, C., R.H. FITCH, H.KAHLER, J.M. JOHNSON und J.W.THOMPSON U.S.Pub.Health Serv.Pub.Health Bull. 164, 15 (1935) zit. nach (38)
- (47) VOLLP, G. Chem.Ber. 95, 1493 (1962)
- (48) WARBURG, O. Naturwissenschaften 25, 1 (1927)
- (49) WEITZEL, G., F. SCHNEIDER, A.-M. FRETZDORFF, K. SEYNSCHE und H. FINGER Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 334, 1 (1963)
- (50) WEITZEL, G., F. SCHNEIDER, K. SEYNSCHE und H. FINGER Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 336, 107 (1964)
- (51) WRBA, H. und H. RABES Z.Krebsforsch. 65, 316 (1963)
- (52) WUNDERLICH, H. Pharmazie 9, 15 (1954)

Lebenslauf

Am 31. August 1936 wurde ich, Adelheid Adam, geb. Piringer, als Tochter des Apothekers Julius Piringer und seiner Ehefrau Amalie, geb. Schmogrowitsch, in Bösing, ČSSR, geboren.

Von 1942 bis 1946 besuchte ich die Volksschulen in Preßburg, ČSSR, und Gallneukirchen, Österreich, anschließend die Mittelschule in Wolfhagen bei Kassel und ab 1947 das Gymnasium für Mädchen in Stuttgart-Bad Cannstatt, wo ich im März 1955 die Reifeprüfung ablegte.

Meine praktische Ausbildung in der Ostend-Apotheke in Stuttgart stand unter der Leitung von Herrn Apotheker Hermann Bostel. Nach dem pharmazeutischen Vorexamen im März 1957 folgte das Studium der Pharmazie an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen und ab 1958 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Hier bestand ich die pharmazeutische Staatsprüfung im Mai 1960.

Im April 1963 heiratete ich den Apotheker und Arzt Dr.med. Dieter Adam aus München.

Seit November 1960 arbeitete ich an der vorliegenden Dissertation unter der Leitung von Herrn Universitätsdozenten Dr. Helmut Schönenberger am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München.

